



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Zélia Maia Neta

**SECAGEM E VIABILIDADE CELULAR DURANTE O ARMAZENAMENTO DE LEITE
FERMENTADO PROBIÓTICO CONTENDO *Limosilactobacillus fermentum***

Florianópolis, SC

2022

Zélia Maia Neta

**SECAGEM E VIABILIDADE CELULAR DURANTE O ARMAZENAMENTO DE LEITE
FERMENTADO PROBIÓTICO CONTENDO *Limosilactobacillus fermentum***

Tese de doutorado submetida ao Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de doutora em Engenharia de Alimentos

Orientador: Prof. João Borges Laurindo, Dr
Coorientadora: Jaqueline de Oliveira Moraes, Dra

Florianópolis, SC

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Maia Neta, Zélia

SECAGEM E VIABILIDADE CELULAR DURANTE O ARMAZENAMENTO
DE LEITE FERMENTADO PROBIÓTICO CONTENDO *Limosilactobacillus*
fermentum / Zélia Maia Neta ; orientador, João Borges
Laurindo, coorientador, Jaqueline Oliveira Moraes, 2022.
121 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em
Engenharia de Alimentos, Florianópolis, 2022.

Inclui referências.

1. Engenharia de Alimentos. 2. Microencapsulação. 3.
vida útil. 4. cast-tape drying . I. Borges Laurindo, João.
II. Oliveira Moraes, Jaqueline. III. Universidade Federal
de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia
de Alimentos. IV. Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS
CAMPUS UNIVERSITÁRIO REITOR JOÃO DAVID FERREIRA LIMA - TRINDADE
FLORIANÓPOLIS - SC
ppgeal.posgrad.ufsc.br TELEFONE: +55 48 3721-4063 / E-MAIL: ppgeal@contato.ufsc.br

Zélia Maia Neta

**SECAGEM E VIABILIDADE CELULAR DURANTE O ARMAZENAMENTO DE
LEITE FERMENTADO PROBIÓTICO CONTENDO *Limosilactobacillus fermentum***

O presente trabalho em nível de doutorado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dr. João Borges Laurindo - Presidente - UFSC
Prof^ª. Dr^ª. Eliana de Paula Ribeiro - Membro Externo - IMT - Instituto Mauá de Tecnologia Prof. Dr.
Juliano De Dea Lindner - Membro Externo - UFSC
Prof^ª. Dr^ª. Patricia Poletto - Membro Interno - UFSC

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de doutora em Engenharia de Alimentos.

Prof^ª. Dra. Sandra Regina Salvador Ferreira
Coordenadora do Programa

Prof. Dr. João Borges Laurindo
Orientador

Florianópolis, 2022.

Este trabalho é dedicado a Deus, minha família e amigos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por seu amor incondicional, por ter me dado sabedoria, saúde e me mantido firme na fé. Pelas pessoas fantásticas que ele colocou em meu caminho, tornando essa trajetória mais leve.

Aos meus pais Tarcísio e Maria José pela educação, carinho, dedicação e total apoio durante a minha pós-graduação. Aos meus irmãos Vicente, Maria Ester, Stherfanny e Tarcísio Filho pelo incentivo e apoio. A minha querida avó Maria, por toda dedicação e carinho que teve e tem por mim. Ao meu esposo Willian pelo apoio, amor, incentivo e paciência.

Minhas queridas amigas Fabíola, Ingrid, Maria Angelica, Maria Jaízia e Milena, pelo incentivo, admiração, amor, cuidado, e por serem minha família longe de casa.

Ao meu orientador João Borges Laurindo, pelos ensinamentos, pela contribuição na vida acadêmica e pela paciência durante o desenvolvimento da pesquisa.

À minha coorientadora, Jaqueline, por todo o apoio, carinho e conselhos durante esse período de doutorado. Por sempre me incentivar e auxiliar nos momentos mais difíceis.

À Denise Laroque pela contribuição durante toda a pesquisa.

Aos queridos colegas do laboratório de Propriedades Físicas de Alimentos (PROFI), ao qual sempre estiveram dispostos a ajudar, auxiliar e incentivar. Meu muito obrigada, por compartilharem sorrisos, lágrimas e café.

À minha família espiritual do Grupo de Oração Universitário e Instituto Santo Agostinho pelo amor, companheirismo e sempre me aproximarem de Deus.

Aos amigos que mesmo longe, demonstraram apoio na minha caminhada e contribuíram de alguma forma durante todos esses anos.

À secretaria do PPGEAL, em nome do Fernando, que sempre prestativo e paciente.

À UFSC pela oportunidade de ingresso no programa de pós-graduação.

À banca examinadora pela disposição, correções e sugestões.

À CAPES pela concessão da bolsa e a oportunidade de estudo.

RESUMO

Este estudo é focado na secagem de leite fermentado por *Streptococcus thermophilus*, com ou sem a adição de microcápsulas contendo microrganismo probiótico *Limosilactobacillus fermentum*, produzidas por emulsão. O processo de secagem escolhido foi o *Cast-Tape Drying* (CTD), devido a resultados satisfatórios já obtidos anteriormente na secagem de produtos termo sensíveis. O CTD é baseado no espalhamento e secagem de uma camada fina da suspensão sobre uma esteira flexível e impermeável. O processo ocorre em temperaturas moderadas e o aquecimento é condutivo. Assim, o objetivo do estudo foi avaliar a viabilidade do leite fermentado desidratado em pó durante o armazenamento em diferentes umidades relativas (26%, 48% e 67%). Foram realizadas comparações das viabilidades celulares de leite fermentado probiótico desidratado por *Cast-Tape Drying* (CTD), *Cast-Tape Drying* a vácuo (V-CTD) e liofilização (LIO). A estabilidade dos pós foi avaliada a partir da viabilidade dos microrganismos, umidade, a_w e cor. A caracterização do produto após reidratação também foi avaliada. A forma de adição dos probióticos não influenciou o tempo de secagem do leite fermentado, com umidade final de $0,09 \text{ g.g}^{-1}$ (b.s) e a_w próxima de 0,38. Os leites fermentados secados entre 50 °C e 80 °C permaneceram com viabilidade acima do previsto para produtos probióticos (mínimo de 10^6 UFC/g). Por outro lado, os pós obtidos por secagem a 98 °C tiveram contagens fora dos limites exigidos para produtos probióticos. Os pós produzidos por CTD-50, CTD-70, V-CTD e LIO, armazenados por 180 dias à 20 °C, nas UR de 26%, 48% e 67%, foram analisados. Após 180 dias, as amostras desidratadas por CTD a 50 °C tiveram redução próxima de 1 log UFC/g, para o LFL e LFE, nas UR de 26% e 48%. As amostras desidratadas por CTD a 70 °C tiveram redução de aproximadamente 1 log para o LFE, e de aproximadamente 2 logs para o LFL, armazenadas em UR de 48% e redução de aproximadamente 1 log, para o LFL e LFE, na UR de 26%. As amostras liofilizadas com LFL, armazenadas na UR de 48%, tiveram redução próxima de 2,5 logs. Os pós armazenados em UR de 67% permaneceram viáveis por aproximadamente 5 dias (LFL) e 10 dias (LFE). Esses resultados indicam que a desidratação do leite fermentado adicionado dos probióticos encapsulados é a melhor alternativa, conferindo proteção às células de *L. fermentum*. O leite fermentado, com microrganismos encapsulados, teve menor tempo de

dispersão e solubilização do que o adicionado de microrganismos livres. Portanto, os pós obtidos por CTD à 50 °C e 70 °C são produtos que permanecem com elevada viabilidade dos microrganismos probióticos por pelo menos 180 dias, à temperatura ambiente.

Palavras-chave: microencapsulação, vida útil, *cast-tape* drying

ABSTRACT

This study is focused on the drying of milk fermented by *Streptococcus thermophilus*, with or without the addition of microcapsules containing the probiotic microorganism *Limosilactobacillus fermentum*, produced by emulsion. The drying process chosen was Cast-Tape Drying (CTD), due to satisfactory results already obtained in the drying of thermo sensitive products. CTD is based on spreading and drying a thin layer of suspension on a flexible, impermeable mat. The process takes place at moderate temperatures and the heating is conductive. Thus, the objective of the study was to evaluate the viability of powdered dehydrated fermented milk during storage at different relative humidities (26%, 48% and 67%). Comparisons of cell viability of probiotic fermented milk dehydrated by Cast-Tape Drying (CTD), Vacuum Cast-Tape Drying (V-CTD) and lyophilization (LIO) were performed. Powder stability was evaluated based on microorganism viability, moisture, a_w and color. The characterization of the product after rehydration was also evaluated. The form of addition of probiotics did not influence the drying time of the fermented milk, with a final moisture content of 0.09 g.g⁻¹ (b.s) and a_w close to 0.38. Fermented milks dried between 50 °C and 80 °C remained with viability above that predicted for probiotic products (minimum of 10⁶ CFU/g). On the other hand, the powders obtained by drying at 98 °C had counts outside the limits required for probiotic products. The powders produced by CTD-50, CTD-70, V-CTD and IOL, stored for 180 days at 20 °C, at 26%, 48% and 67% RH, were analyzed. After 180 days, samples dehydrated by CTD at 50 °C had a reduction close to 1 log CFU/g, for LFL and LFE, at 26% and 48% RH. Samples dehydrated by CTD at 70 °C had a reduction of approximately 1 log for LFE, and of approximately 2 logs for LFL, stored at 48% RH and reduction of approximately 1 log, for LFL and LFE, in the RH of 26%. The samples lyophilized with LFL, stored at 48% RH, had a reduction close to 2.5 logs. Powders stored at 67% RH remained viable for approximately 5 days (LFL) and 10 days (LFE). These results indicate that the dehydration of fermented milk with the addition of encapsulated probiotics is the best alternative, providing protection to *L. fermentum* cells. The fermented milk, with encapsulated microorganisms, had a shorter dispersion and solubilization time than the added free microorganisms. Therefore, the powders obtained by CTD at 50 °C and

70 °C are products that remain with high viability of probiotic microorganisms for at least 180 days at room temperature.

Keywords: microencapsulation, shelf life, cast-tape drying

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema organizacional da proposta subdividido em ESTUDO I, ESTUDO II e ESTUDO III.....	24
Figura 2 – Estrutura do alginato.....	33
Figura 3 – Curvas típicas da secagem com ar quente (secagem convectiva).....	38
Figura 4 – a) Esquema do aparato experimental do CTD que opera em batelada; b) Fotografia do equipamento de CTD.....	43
Figura 5 – a) Esquema do equipamento de V-CTD; b) Câmara de vácuo usada no trabalho de Costa (2017).....	44
Figura 6 – Velocidade de reações químicas e crescimento microbiano em função da atividade de água no alimento.....	46
Figura 7 – Isotherma típica de sorção.....	47
Figura 8 – Tipos de isotermas de sorção.....	49
Figura 9 – Esquema organizacional do Estudo I: Efeito da temperatura de secagem do leite fermentado contendo <i>L. fermentum</i> , livre ou encapsulado, elaborado pelo processo <i>Cast-Tape Drying</i>	51
Figura 10 – Fluxograma de obtenção de microcápsula por emulsão.....	52
Figura 11 – Cinética da concentração de ácido láctico (símbolos abertos), pH (símbolos fechados) e desvio padrão (Traços verticais) durante a fermentação do leite fermentado por <i>S. thermophilus</i> . Realizada em triplicata.....	55
Figura 12 – Representação das regiões (1, 2 e 3) de coleta das amostras para obtenção das curvas de secagem em tempos pré-determinados em CTD.....	57
Figura 13 – Curvas de sobrevivência descritas pelo modelo de Weibull para diferentes valores para o fator forma α	60
Figura 14 – Esquema organizacional do Estudo II: Viabilidade microbiológica do leite fermentado em pó, contendo <i>L. fermentum</i> livres ou encapsulados, desidratado por diferentes métodos de secagem e armazenado em diferentes UR (26%, 48% e 67%).....	61

Figura 15 – Esquema organizacional do Estudo III: Reidratação do pó de leite fermentado contendo <i>L. fermentum</i> livres ou encapsulados pelo método CTD-70.....	64
Figura 16 – Aparato experimental utilizado para determinar o tempo de dispersão dos pós de leite fermentado em água.....	66
Figura 17 – Microscopias eletrônicas de varredura (MEV) de cápsulas sem microrganismo (CSM) e cápsulas com microrganismo (CCM). a) CSM com aumento de 2000x; b) CSM com aumento de 500x; c) CCM com aumento de 2000x; d) CCM com aumento de 500x.....	71
Figura 18 – Evolução temporal da umidade (círculo), em base seca, e atividade de água (triângulo), do leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico livre (símbolo aberto) e leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico encapsulado (símbolo fechado) durante a secagem em CTD nas temperaturas de água: a) 50 °C; b) 60 °C; c) 70 °C; d) 80 °C; e) 98 °C. Análises realizadas em triplicata.....	73
Figura 19 – Curva de inativação térmica do <i>L. fermentum</i> vs. tempo de secagem de leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico livre (LFL) e leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico encapsulado (LFE), nas temperaturas da água (secagem): 50 °C, 60 °C, 70 °C, 80 °C e 98 °C, realizadas em triplicata. Log (N/N ₀) é medido em UFC/mL.....	75
Figura 20 – Curva fantasma da destruição térmica de <i>L. fermentum</i>	78
Figura 21 – Umidade do leite fermentado probiótico em pó, obtidos por diferentes métodos de secagem, armazenados a 20 °C e diferentes UR.....	81
Figura 22 – Atividade de água do leite fermentado probiótico em pó, obtidos por diferentes métodos de secagem, armazenados nas diferentes condições de armazenamento.....	82
Figura 23 – Viabilidade dos pós de leite fermentado probiótico armazenados à 20 °C, em UR 26% e 48%.....	85
Figura 24 – Viabilidade dos pós de leite fermentado probiótico armazenados em UR de 67%, obtidos pelos diferentes processos de secagem.....	87

Figura 25 – Parâmetros de cor da escala CIELab (L^*) das amostras durante o armazenamento em diferentes UR de pós de leite fermentado probiótico, obtidos por diferentes métodos de secagem.....	90
Figura 26 – Parâmetros de cor da escala CIELab (a^*) das amostras durante o armazenamento em diferentes UR de pós de leite fermentado probiótico, obtidos por diferentes métodos de secagem.....	92
Figura 27 – Parâmetros de cor da escala CIELab (b^*) das amostras durante o armazenamento em diferentes UR de pós de leite fermentado probiótico, obtidos por diferentes métodos de secagem.....	93
Figura 28 – Tamanho de partículas.....	98
Figura 29 – Difractogramas de raios-X do amido, alginato, cápsulas e das amostras de leite fermentado probiótico obtidas por CTD-70.....	100
Figura 30 – Termograma de DSC para as amostras em pó de leite fermentado adicionados de microrganismo probiótico livre (LFL) (Azul) e encapsulado (LFE) (Vermelho) obtidos por CTD-70.....	101
Figura 31 – Isotermas de sorção de umidade do leite fermentado probiótico adicionado de microrganismo livre (LFL) (Azul) e encapsulado (LFE) (Vermelho), obtidos por CTD-70.....	102
Figura 32 – Curvas de tensão de cisalhamento vs taxa de deformação para o leite fermentado inicial e pó reconstituído (a) e viscosidade aparente vs taxa de cisalhamento para o leite fermentado inicial e pó reconstituído (b).....	107

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Atividade de água de soluções salinas saturadas a 25 °C.....	69
Tabela 2 - Atividade de água, teor de umidade em base seca e tempo de secagem do leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico livre (LFL) e leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico encapsulado (LFE) em CTD nas temperaturas de água de aquecimento de 50 °C, 60 °C, 70 °C, 80 °C e 98 °C.....	74
Tabela 3 - Médias (triplicatas) do coeficiente de determinação e tempo de redução decimal para o leite fermentado com adição de microrganismo livre (LFL) e encapsulado (LFE) em cada temperatura de secagem em CTD.....	76
Tabela 4 - Parâmetros de cor das amostras de leite fermentdo probiótico e pós obtidos por CTD, em diferentes temperaturas de secagem.....	79
Tabela 5 - Viabilidade de leite fermentado probiótico em pó, seco pelos diferentes métodos de secagem.....	84
Tabela 6 - Densidade aparente, densidade real e porosidade dos pós de leite fermentado probiótico obtidos por CTD-70.....	95
Tabela 7 - Solubilidade dos pós do leite fermentado probiótico obtidos por CTD-70.....	96
Tabela 8 - Tempo de dispersão dos pós do leite fermentado probiótico obtidos por CTD-70.....	97
Tabela 9 - Parâmetros do modelo de GAB para os leites fermentados probióticos produzidos por CTD-70.....	103
Tabela 10 - Caracterização físico-química dos pós reconstituídos comparados com as amostras antes de secas.....	104
Tabela 11 - Parâmetros de cor das amostras de leite fermentado probiótico obtido por CTD-70 comparados com amostras antes de secas.....	106
Tabela 12 - Parâmetros reológicos do modelo de Ostwald das amostras antes de secas e dos pós reconstituídos.....	108

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Abreviaturas e siglas	Descrição
ANOVA	Análise de variância
AOAC	Associação de Químicos Analíticos Oficiais
BAL	Bateria ácido láctico
CCA	Centro de Ciências Agrária
CTD	<i>Cast-tape drying</i>
CSM	Cápsulas sem microrganismo
CCM	Cápsulas com microrganismo
DRX	Difratometria de raio-X
DSC	Calorimetria diferencial de varredura
EQA	Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos
EE	Eficiência de encapsulamento
FAO	Organização de Alimentos e Agricultura
FDA	Food and Drug Administration
GAB	Guggenheim-Anderson-de Boer
LFL	Leite fermentado adicionado de microrganismo livre
LFE	Leite fermentado adicionado de microrganismo encapsulado
MAPA	Ministério de Agricultura e Pecuária
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MRS	Ágar De Man, Rogosa e Sharpe
PPGEAL	Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos
pH	Potencial hidrogênio
PROFI	Laboratório de Propriedades Físicas de Alimentos
OMS	Organização Mundial da Saúde
RW	<i>Refractance window</i>
SC	Santa Catarina
SOL	Solubilidade

SST	Sólidos solúveis totais
St	<i>Streptococcus thermophilus</i>
TACO	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos
TGI	Trato Gastrointestinal
UFC	Unidade Formadora de Colônias
UR	Umidade Relativa
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
V-CTD	<i>Cast-tape drying</i> sob vácuo

LISTA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Descrição	Unidade
σ	Tensão de cisalhamento	Pa
a^*	Tonalidade vermelha/verde	–
a_w	Atividade de água	–
b^*	Tonalidade amarela/azul	–
Ca^{2+}	Cálcio	–
CaCO_3	Carbonato de Cálcio	–
CaCl^{+2}	Cloreto de Cálcio	–
CO_2	Dióxido de carbono	–
H_2O_2	Água oxigenada	–
K	Constante de GAB	–
L^*	Luminosidade entre o branco e o preto	–
pH	Potencial hidrogeniônico	–
ϵ	Porosidade do leite de partículas	–
ρ_P	Massa específica real	g cm^{-3}
ρ_b	Massa específica aparente	g cm^{-3}

SUMÁRIO

DIAGRAMA CONCEITUAL	22
1 INTRODUÇÃO	25
2 OBJETIVOS	27
2.1 OBJETIVO GERAL.....	27
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	28
3.1 BACTÉRIAS ÁCIDO LÁCTICAS (BAL)	28
3.2 MICRORGANISMOS PROBIÓTICOS	29
3.3 <i>LIMOSILACTOBACILLUS FERMENTUM</i>	30
3.4 <i>STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS</i>	31
3.5 MICROENCAPSULAÇÃO	31
3.6 LEITE FERMENTADO	35
3.7 LEITE FERMENTADO EM PÓ	36
3.8 SECAGEM	37
3.8.1 Métodos de secagem	40
3.8.1.1 <i>Liofilização</i>	41
3.8.1.2 <i>Refractance Window (RW) e Cast-Tape Drying (CTD)</i>	41
3.8.1.3 <i>Cast-Tape Drying sob vácuo (V-CTD)</i>	43
3.9 ATIVIDADE DE ÁGUA (a_w).....	45
3.10 ISOTERMAS DE SORÇÃO DE UMIDADE	46
4 MATERIAL E MÉTODOS	49
4.1 MATERIAIS	49
4.2 MANUTENÇÃO E PREPARO DA CULTURA PROBIÓTICA	50
4.3 ESTUDO I - SECAGEM DE LEITE FERMENTADO POR CAST-TAPE DRYING: INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DO ENCAPSULAMENTO DO <i>L. FERMENTUM</i> NA VIABILIDADE CELULAR APÓS O PROCESSAMENTO.	50
4.3.1 Encapsulação do <i>L. fermentum</i>	51

4.3.2	Caracterização das microcápsulas	52
4.3.2.1	<i>Determinação da umidade e atividade de água (a_w)</i>	52
4.3.2.2	<i>Eficiência de Encapsulação (EE)</i>	53
4.3.2.3	<i>Microscopia eletrônica de varredura (MEV)</i>	53
4.3.2.4	<i>Difração de raios X (DRX)</i>	54
4.3.3	Preparo do leite fermentado	54
4.3.3.1	<i>Caracterização do leite fermentado</i>	55
4.3.3.1.1	Sólidos solúveis totais	55
4.3.3.1.2	Potencial de hidrogênio (pH)	55
4.3.3.1.3	Acidez em ácido láctico	55
4.3.4	Processo de secagem	56
4.3.4.1	<i>Cast-Tape Drying (CTD)</i>	56
4.3.5	Cinéticas de secagem	57
4.3.5.1	<i>Modelagem matemática das curvas de inativação de <i>L. fermentum</i> durante a secagem</i>	58
4.3.5.1.1	Modelo Log-linear.....	58
4.3.5.1.2	Modelo de Weibull.....	59
4.4	ESTUDO II - VIABILIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE FERMENTADO EM PÓ CONTENDO <i>L. FERMENTUM</i>, SECADO POR DIFERENTES MÉTODOS E ARMAZENADO EM DIFERENTES UR	60
4.4.1	Métodos de secagem	61
4.4.1.1	<i>Cast-Tape Drying</i>	61
4.4.1.2	<i>Liofilização</i>	61
4.4.1.3	<i>Cast-Tape Drying sob vácuo (V-CTD)</i>	62
4.4.1.4	<i>Moagem e classificação do pó</i>	62
4.4.1.5	<i>Estabilidade dos pós de leite fermentado armazenados em diferentes UR (%)</i>	62

4.4.1.5.1	Análises microbiológicas	63
4.4.1.5.2	Umidade e a_w	63
4.4.1.5.3	Cor.....	63
4.5	ESTUDO III - REIDRATAÇÃO DOS PÓS DE LEITE FERMENTADO CONTENDO L. FERMENTUM, DESIDRATADOS POR CAST-TAPE DRYING	64
4.5.1	Reconstituição do pó	64
4.5.2	Caracterização do leite fermentado inicial, dos pós e suspensões reconstituídas.....	64
4.5.2.1	<i>Densidade aparente, massa específica real e porosidade</i>	65
4.5.2.2	<i>Distribuição de tamanho das partículas.....</i>	65
4.5.2.3	<i>Tempo de dispersão.....</i>	66
4.5.2.4	<i>Solubilidade (SOL)</i>	67
4.5.2.5	<i>Comportamento reológico</i>	67
4.5.2.6	<i>Difratometria de raios-X (DRX).....</i>	68
4.5.2.7	<i>Calorimetria diferencial de varredura (DSC).....</i>	68
4.5.2.8	<i>Isotermas de sorção de umidade</i>	68
4.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	70
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	70
5.1	ESTUDO I - SECAGEM DE LEITE FERMENTADO POR CAST-TAPE DRYING: INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DO ENCAPSULAMENTO DO L. FERMENTUM NA VIABILIDADE CELULAR APÓS O PROCESSAMENTO.	70
5.1.1	Caracterização das microcápsulas.....	70
5.1.1.1	<i>Eficiência de Encapsulação (EE).....</i>	70
5.1.1.2	<i>Determinação da umidade e Atividade de água (a_w)</i>	70
5.1.1.3	<i>Microscopia eletrônica de varredura (MEV)</i>	71
5.1.2	Cinéticas de secagem de leite fermentado probiótico produzido por Cast-Tape Drying.....	72
5.1.2.1	<i>Cinética de umidade e atividade de água (a_w)</i>	72

5.1.2.2	<i>Cinética e modelagem de inativação de L. fermentum em leite fermentado durante a secagem</i>	75
5.1.2.3	<i>Cor</i>	79
5.2	ESTUDO II - VIABILIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE FERMENTADO CONTENDO L. FERMENTUM, LIVRES OU ENCAPSULADOS, POR DIFERENTES MÉTODOS DE SECAGEM E ARMAZENADOS EM UR DE 26%, 48% E 67%	80
5.2.1	Estabilidade microbiológica do leite fermentado em pó armazenado em diferentes UR (%)	80
5.2.1.1	<i>Viabilidade microbiológica</i>	84
5.2.1.2	<i>Cor</i>	88
5.3	ESTUDO III - REIDRATAÇÃO DO PÓ DE LEITE FERMENTADO CONTENDO MICRORGANISMOS LIVRES OU ENCAPSULADOS OBTIDOS PELO MÉTODO CTD-70.....	95
5.3.1	Caracterização do pó	95
5.3.1.1	<i>Densidade aparente, massa específica real e porosidade</i>	95
5.3.1.2	<i>Solubilidade (SOL)</i>	96
5.3.1.3	<i>Tempo de dispersão e distribuição de tamanho de partícula</i>	97
5.3.1.4	<i>Difratometria de raios-X (DRX) e Calorimetria diferencial de varredura (DSC)</i>	99
5.3.1.5	<i>Isotermas de sorção de umidade</i>	101
5.3.2	Reconstituição do pó	103
5.3.2.1	<i>Parâmetros físico-químicos dos pós reconstituídos</i>	104
5.3.2.2	<i>Cor</i>	105
5.3.2.3	<i>Comportamento reológico</i>	107
6	CONCLUSÕES	109
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	110

DIAGRAMA CONCEITUAL DO ESTUDO

O quê? Por quê?

- Estudo da secagem de leite fermentado probiótico por *Cast-Tape Drying*, *Cast-Tape Drying* a vácuo e liofilização.
- Há carência de estudos da secagem de leite fermentado, adicionado de *L. Fermentum*;
- Avaliação da viabilidade dos microrganismos nos pós desidratados durante o armazenamento por 180 dias.

O que já foi feito?

- Estudos de encapsulação de microrganismos probióticos por diversas técnicas e a viabilidade de microrganismos encapsulados;
- Secagem de iogurte e iogurte com adição de probióticos livres.

Hipóteses da pesquisa?

- O *Cast-Tape Drying* tem sido usado para secar polpas sensíveis e pode secar leite fermentado probiótico sem inativar significativamente os microrganismos;
- Leite fermentado em pó com microrganismos probióticos encapsulados são mais estáveis no armazenamento do que o leite fermentado com probiótico livre;
- É possível reconstituir o leite fermentado em pó a condições reológicas comparadas ao leite fermentado antes da desidratação.

Estratégias de investigação

- Produzir leite fermentado com *Streptococcus thermophilus* e adicionar *L. fermentum* (microrganismos probióticos) livres ou encapsulados;
- Secar por diferentes métodos e condições de secagem;
- Avaliar a viabilidade dos microrganismos probióticos nos pós desidratados durante o armazenamento por 180 dias, sem refrigeração. Estudar a influência da atividade de água dos pós na viabilidade dos microrganismos.

Esta tese está subdividida em três estudos complementares entre si, conforme apresentado na Figura 1.

Figura 1 – Esquema organizacional da proposta subdividida em ESTUDO I, ESTUDO II e ESTUDO III

<p>ESTUDO I - Secagem de leite fermentado por cast-tape drying: influência da temperatura e do encapsulamento do <i>L. Fermentum</i> na viabilidade celular após o processamento.</p>	<p>VARIÁVEIS: Temperatura de secagem (50 °C, 60 °C, 70 °C, 80 °C e 98 °C). RESPOSTAS: Tempo, taxa de secagem e viabilidade microbiana</p>
<p>ESTUDO II – Estudo da viabilidade do <i>L. fermentum</i> em leite fermentado, desidratado por diferentes métodos de secagem, e armazenado em diferentes umidades relativas.</p>	<p>VARIÁVEIS: Métodos de secagem: CTD - 50 e 70 °C; V-CTD - 70 °C, 35 KPa e liofilização; e diferentes UR de armazenamento (26%, 48% e 67%). RESPOSTAS: Viabilidade microbiana, umidade, a_w e cor.</p>
<p>ESTUDO III - Reidratação do pó de leite fermentado desidratado contendo microrganismos livres ou encapsulados.</p>	<p>VARIÁVEIS: Leite fermentado e leite fermentado em pó RESPOSTAS: Propriedades reológicas e morfológicas</p>

1 INTRODUÇÃO

A indústria alimentícia tem estado atenta às mudanças de estilo de vida da população, que busca cada vez mais produtos voltados para a saúde e o bem-estar (NUNES et al., 2018). Dentre estes, destacam-se os alimentos com microrganismos probióticos ativos, que beneficiam a saúde humana se administrados em quantidades adequadas (FAO / WHO, 2019). Uma explicação para essa ação benéfica dos probióticos é a redução de microrganismos patogênicos na flora do trato gastrointestinal (TGI), com redução da inflamação das paredes dos intestinos (NUNES et al., 2018). Os microrganismos usualmente considerados probióticos são pertencentes ao gênero *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* (CHEN et al., 2017; VEGA-SAGARDÍA et al., 2018).

O uso de microrganismos probióticos em alimentos tem algumas dificuldades, tais associadas à baixa resistência desses microrganismos a diversos fatores ambientais. Entre eles destacam-se o pH pós-acidificação em produtos fermentados (durante o armazenamento), a produção de peróxido de hidrogênio, a intolerância ao oxigênio (deve-se evitar a permeação de oxigênio através de embalagem), e temperaturas de armazenamento. Além disso, eles são sensíveis às condições do TGI (pH, enzimas, sais biliares), limitando a viabilidade e funcionalidade destes microrganismos quando chegam aos intestinos (DOHERTY et al., 2011). Para que promovam benefícios à saúde, as bactérias probióticas devem estar presentes no mínimo, entre 10^6 e 10^7 UFC / g em produtos alimentares, no momento do consumo (ANVISA, 2018).

Métodos convencionais para preservação de culturas fermentativas ou probióticas, como o congelamento e a liofilização, permitem obter altas taxas de sobrevivência dessas culturas. No entanto, é preciso manter a cadeia do frio, com seus custos energéticos associados. Assim, a desidratação de alimentos contendo microrganismos probióticos representam uma alternativa, desde que as técnicas de secagem mantenham a viabilidade dos microrganismos durante e após o processamento. O tema é importante e o sucesso de processos de desidratação para a produção de produtos probióticos precisam ser investigados, a fim de encontrar estratégias de processo que considerem a viabilidade celular após a secagem e os

custos associados (MELIN et al., 2007; SANTIVARANGKNA; KULOZIK; FOERST, 2007).

Um método promissor para a proteção dos probióticos é a microencapsulação (RIBEIRO, 2011), o que pode permitir novas aplicações alimentares (MARTIN et al., 2013). A encapsulação das células dentro de uma matriz ou membrana semipermeável protege os microrganismos do ambiente em que eles são inseridos. Ao mesmo tempo, a membrana pode controlar a entrada e a saída de substâncias do meio externo, dependendo da sua composição e estrutura, podendo ser preparada para aumentar a resistência do microrganismo na passagem pelo TGI. A microencapsulação também pode aumentar a sobrevivência dos microrganismos durante os processos de liofilização, congelamento e armazenamento. Assim, a microencapsulação tem sido proposta para diversos produtos lácteos fermentados, devido ao aumento da viabilidade dos microrganismos nos produtos e no TGI (SHEU; MARSHALL, 1993; RIBEIRO, 2011).

O *Lactobacillus fermentum*, reclassificado em 2020 como *Limosilactobacillus fermentum* (*L. fermentum*), é um probiótico pouco estudado na literatura (ZHENG et al., 2020), que demonstra abrangentes efeitos favoráveis na saúde do hospedeiro (ZHAO et al., 2019). Suas atividades antimicrobiana e antioxidante têm sido relatadas na literatura (LEHRI; SEDDON; KARLYSHEV, 2017), além de possivelmente beneficiar a saúde cardiovascular, com efeitos positivos na lipoproteína sanguínea, reduzindo o estresse oxidativo e as inflamações celulares (KULLISSAR et al., 2016; ZHAO et al., 2019).

Os leites fermentados são produtos lácteos comumente usados para carrear microrganismos probióticos (SOCCOL; PANDEY; LARROCHE, 2013), matriz alimentar favorável para esse fim, pois possui cálcio, proteínas, riboflavina, vitamina B6 e vitamina B12 (MUNIANDY; SHORI; BABA, 2017). No entanto, nesta forma, possui reduzida vida útil, o que é uma desvantagem para seu uso industrial.

Portanto, a secagem do leite fermentado é uma opção para manter a viabilidade microbiana de produtos probióticos durante o armazenamento, com base na escolha correta da atividade de água final do produto desidratado (RASIC; KURMANN, 1978; SAKIN-YILMAZER et al., 2014).

Produtos em pó são frequentemente obtidos pelas técnicas de *spray drying*, leite fluidizado e liofilização. Entretanto, novas técnicas vêm sendo estudadas com a finalidade da redução do consumo de energia, manutenção da qualidade e segurança dos produtos, e redução dos seus impactos ambientais (NINDO; TANG, 2007). Poucas pesquisas são encontradas em relação à obtenção de leites fermentados desidratados, com foco na viabilidade dos microrganismos probióticos durante a secagem e armazenamento (SANTOS et al., 2018; TONTUL et al., 2018). Além de manter a viabilidade dos probióticos, a reconstituição dos pós desidratados deve resultar em leite fermentado com comportamento reológico análogo ao leite fermentado fresco. As propriedades reológicas do leite fermentado estão relacionadas aos seus parâmetros de qualidade sensorial, como a consistência na colher e na boca, que afetam a aceitação do produto pelo consumidor (SAKIN-YILMAZER et al., 2014).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver estratégias de desidratação de leite fermentado contendo microrganismos probióticos para a obtenção de produtos em pó com alta concentração de microrganismos viáveis por longos tempos de armazenamento à temperatura ambiente

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Avaliar o encapsulamento de *L. fermentum* pela técnica de emulsão, usando alginato e amido;
- ✓ Caracterizar morfológicamente as cápsulas de alginato e amido com e sem o microrganismo probiótico;
- ✓ Determinar as cinéticas de secagem, atividade de água (a_w) e viabilidade microbiológica do leite fermentado nas diferentes temperaturas de secagem: 50 °C, 60 °C, 70 °C, 80 °C e 98 °C, pelo processo *Cast-Tape Drying*;

- ✓ Obter pós pelos diferentes métodos de secagem: *Cast-Tape Drying* (Temperatura de secagem 50 °C e 70 °C), liofilização e *Cast-Tape Drying* sob vácuo (Temperatura de 70 °C e pressão 35 KPa) e avaliar a sua estabilidade, armazenando em diferentes UR: 26%, 48% e 67%;
- ✓ Obter e caracterizar os pós obtidos por *Cast-Tape Drying*, na melhor temperatura de secagem, quanto aos parâmetros químicos, físicos, reológicos, morfológicos e reidratação.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 BACTÉRIAS ÁCIDO LÁCTICAS (BAL)

As bactérias ácido lácticas (BAL) são largamente empregadas nas indústrias alimentícias, principalmente em produtos lácteos. Isso se justifica pela capacidade que elas têm de conferir diferentes atributos sensoriais aos produtos fermentados, como textura, sabor e aroma agradáveis (HUERTAS, 2010). Elas também são amplamente encontradas em outros meios, como carnes, hortaliças fermentadas, massa azeda, silagem e bebidas alcoólicas (FALAH et al., 2019).

Pertencente ao gênero *Lactobacillus*, da família *Lactobacillaceae*, estes microrganismos se apresentam na forma de cocos ou bacilos (SIAMANSOURI; MOZAFFARI; ALIKHANI, 2013). Este gênero possui grande número de espécies com variadas propriedades bioquímicas e fisiológicas, capazes de crescer em temperaturas que variam de 2 °C a 53 °C, e pH ótimo entre 5,5 e 6,2 (KANDLER; WEISS, 1986). Não são formadoras de esporos, não são móveis, são *microaerófilos*, catalase positivos, Gram positivos, e fermentam os açúcares produzindo ácido láctico como principal produto. Quando são homofermentativos (exemplo: *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus*), fermentam o açúcar formando ácido láctico e pequenas quantidades de ácido acético, dióxido de carbono e outros produtos. Caso sejam heterofermentativos, produzem ácido láctico e importantes quantidades de compostos voláteis, como os álcoois (JAY, 1994; FRAZIER; WESTHOFF, 1993).

3.2 MICRORGANISMOS PROBIÓTICOS

Os microrganismos probióticos são definidos pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como microrganismos vivos, que quando administrados em quantidades adequadas conferem benefícios à saúde (FAO / WHO, 2019). Promovem benefícios à saúde humana inibindo o crescimento de bactérias patogênicas, competindo com estas por nutrientes para o crescimento e a proliferação (GALDEANO et al., 2019). Assim, estimulam seletivamente a reprodução ou atividade de populações bacterianas benéficas aos intestinos (MATTILA-SANDHOLM et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2009), criando uma flora intestinal que promove a saúde humana (FULLER, 1989).

Além das BAL (gênero *Lactobacillus*) usadas como probióticos, algumas leveduras como *Saccharomyces boulardii* (KELLER et al., 2018) também são usadas. Das cepas nativas da microbiota intestinal, os gêneros probióticos de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* vêm sendo amplamente estudados e estabelecidos como habitantes nativos fundamentais no intestino (CAPELA; HAY; SHAH, 2006).

As mudanças nos hábitos alimentares tem sido acompanhada por um aumento da demanda por alimentos promotores de saúde, como os alimentos funcionais (BROWN et al., 2018). Assim, as indústrias alimentícias têm buscado inovações tecnológicas no desenvolvimento de alimentos probióticos (TERPOU et al., 2019), como evidenciado pelo crescente número de alimentos probióticos e suplementos alimentares comercializados nos últimos anos (KAILASAPATHY, 2002).

O uso de microrganismos probióticos na indústria de alimentos tem produzido uma variedades de formulações, divididas em duas classes distintas: produtos lácteos, como queijos, iogurtes, sorvetes, leites e cremes acidificados e produtos não lácteos, como hortaliças, carnes, pães, chocolates, sucos de frutas e outras preparações com frutas (TERPOU et al., 2019).

Em produtos lácteos fermentados, as culturas probióticas podem ser adicionadas antes da fermentação, junto às culturas iniciadoras do leite fermentado ou após a fermentação, ao produto resfriado a 4 °C (LOURENS-HATTINGH; VILJOEN, 2001).

A inclusão de probióticos em alimentos em escala industrial abrange vários desafios, considerando aspectos microbiológicos, tecnológicos em geral e econômicos (TERPOU et al., 2019). Os produtos devem manter suas características funcionais durante todas as operações de processamento, armazenamento e a passagem pelo TGI (ARAGÓN-ROJAS et al., 2019). A quantidade mínima diária recomendada é de 10^8 a 10^9 UFC do produto no momento do consumo, que corresponde à ingestão de 100 g de produto contendo 10^6 a 10^7 UFC/g. Essa elevada concentração é necessária para que as bactérias sobrevivam às condições ácidas do TGI e proliferem no intestino (TERPOU et al., 2017).

A passagem pelo TGI consiste em diferentes processos que ocorrem no estômago (baixo pH), intestinos delgado e grosso (ação de enzimas e sais biliares). A colonização de *Lactobacillus* é favorecida no cólon e no íleo terminal do TGI humano (ABADÍA-GARCÍA et al., 2013; MARTEAU et al., 1997).

3.3 LIMOSILACTOBACILLUS FERMENTUM

L. fermentum é uma bactéria ácido láctica (BAL), Gram-positiva, delgada, não móvel, do gênero *Limosilactobacillus*, encontrada em saliva humana, vagina humana e no TGI de humanos e animais (ZHAO et al., 2021). A maioria das cepas apresentam características probióticas, ainda pouco estudadas na literatura. As principais espécies probióticas comercializadas incluem o PCC, ME-3 e CECT 5716 (MAÑÉ et al., 2009; ARCHER et al., 2015).

O *L. fermentum* CECT5716 é um microrganismo isolado do leite humano, conhecido por reduzir a inflamação e danos intestinais, tendo sido usado em produtos alimentícios com a reivindicação de melhorar ou manter a saúde do consumidor (MAÑÉ et al., 2009).

Na literatura, podem ser encontrados estudos sobre este probiótico em iogurte (ALE et al., 2019), suco fermentado (PANDA et al., 2017) e encapsulação (ARAGÓN-ROJAS et al., 2018; MARTIN et al., 2017; LIAO et al., 2019; ARAGÓN-ROJAS et al., 2019). Assim, novas tecnologias são necessárias para a manutenção da viabilidade das bactérias probióticas quando inseridas na matriz alimentar.

3.4 *STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS*

S. thermophilus é uma bactéria gram-positivo, que exibe células ovoides em pares ou em cadeias curtas, organismo anaeróbio aerotolerante (URIOT et al., 2017) e termofílica, com temperatura ótima de crescimento entre 40 °C e 45 °C (LUCEY; SINGH, 1998).

É uma espécie de *Streptococcus* usada na indústria de alimentos e reconhecida como segura pela *Food and Drug Administration* (FDA) (URIOT et al., 2017). Essa bactéria desempenha um importante papel na indústria de alimentos, sendo amplamente utilizada na produção de produtos lácteos fermentados, atuando em sinergismo com o *L. bulgaricus* na produção de iogurte (HAN et al., 2020), sendo considerada o segundo iniciador mais importante da indústria de laticínios após o *Lactococcus Lactis* (HOLS et al., 2005). Quando aplicado na produção de leite fermentado, o *S. Thermophilus* gera uma aparência viscosa ao produto, devido aos exopolissacarídeos (EPS) sintetizados por este microrganismo (KHANAL; LUCEY, 2017). Alguns estudos foram realizados para identificar o efeito da temperatura de fermentação nas propriedades dos exopolissacarídeos e no comportamento de gelificação por meio de duas cepas de *S. thermophilus* (DGCC7785 e St-143) (KHANAL; LUCEY, 2018), e no enriquecimento da cultura com ácido γ -aminobutírico (GABA) do leite fermentado por meio da fermentação por *S. thermophilus* (HAN et al., 2020).

A literatura tem reportado o uso do *S. thermophilus* na obtenção de leites fermentados, com possível efeito terapêutico na gastrite crônica (RODRÍGUEZ et al., 2010). Leites fermentados com alto teor de folato também têm sido estudados, pois há evidência de que este produto pode aumentar o nível de hemoglobina no sangue (IYER; TOMAR, 2011).

3.5 MICROENCAPSULAÇÃO

O conceito de microencapsulação tem sua origem na idealização do modelo celular, no qual o núcleo é envolvido por uma membrana semipermeável que o protege do meio externo e ao mesmo tempo controla a entrada e a saída de substâncias na

célula (RIBEIRO, 2011). A encapsulação vem sendo o método mais pesquisado para melhorar a sobrevivência de probióticos e liberação de compostos bioativos (TERPOU et al., 2019). É uma alternativa eficiente para manter a viabilidade dos probióticos, pois permite isolá-lo do meio ambiente, aumentando sua resistência às condições que são submetidos na produção e durante o armazenamento. As paredes das cápsulas possuem efeito protetor, que se dá pela limitação da difusão de substâncias inibitórias, como o produto metabólico de culturas iniciadoras, como H₂O₂ e ácido láctico (HEIDEBACH et al., 2012).

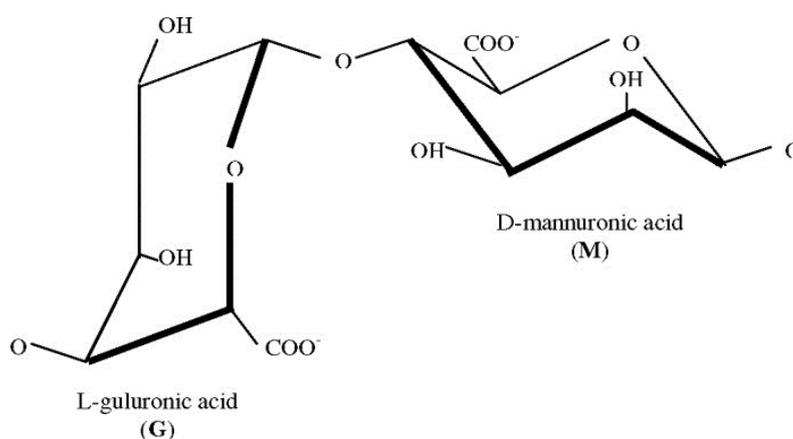
Os probióticos podem ser encapsulados pelo uso de diferentes técnicas, tais como emulsão (MARTIN et al., 2013; SULTANA et al., 2000), extrusão (LIAO et al., 2019) e por meio de diferentes métodos de secagem (ARAGÓN-ROJAS et al., 2019). A escolha da técnica depende da aplicação final do probiótico (ARAGÓN-ROJAS et al., 2019; PINTO et al., 2012), o tamanho e o mecanismo de liberação das cápsulas, e as propriedades físico-químicas do meio em que serão inseridas (RIBEIRO, 2011). As cápsulas precisam ter propriedades que garantam a sobrevivência do probiótico durante o processamento submetido, até a chegada ao intestino (ARAGÓN-ROJAS et al., 2019). Determinadas técnicas de secagem para microencapsulação, como *spray drying* e extrusão têm aplicações limitadas, devido principalmente à sua termossensibilidade e tamanhos de partículas maiores do que o indicado (MARTIN et al., 2013). A técnica escolhida deve, além de garantir a sobrevivência do probiótico, ter um baixo teor de umidade para melhor estabilidade dos microrganismos (ARAGÓN-ROJAS et al., 2019).

Os materiais de parede usados para a microencapsulação dependem das aplicações e são diversos, tais como ágar, alginato de sódio, carragena, goma arábica, quitosana, dextranas, amido e derivados da celulose (etilcelulose, acetilcelulose, metilcelulose, carboximetilcelulose, nitrocelulose) (SERNA-COCK; VALLEJO-CASTILLO, 2013), entre outros.

Dentre os materiais de parede utilizados, o alginato é um dos compostos em destaque, sendo formado por blocos homopoliméricos de ácido α -D-glucurônico ("blocos G") e ácido β -D-manurônico ("blocos M") (CHUANG et al., 2017; LAURIENZO, 2010; PIORNOS; BURGOS-DÍAZ MORALES; RUBILAR; ACEVEDO, 2017). É obtido por processo de extração de algas marinhas marrons (*Phaeophyceae*), no qual a

dimensão dos resíduos M e G depende das espécies de algas marinhas das quais o ácido algínico é isolado (BUREY et al., 2008), Figura 2. Amplamente utilizado na indústria de alimentos, com a finalidade de modificar a capacidade de ligação à água, espessamento, estabilizar emulsões e formar filmes (CHING; BANSAL; BHANDARI, 2017).

Figura 2 – Estrutura do alginato.



Fonte: (BUREY et al., 2008).

O alginato de sódio vem sendo amplamente usado para a encapsulação de probióticos (MARTIN et al., 2013; PIORNOS et al., 2017; SIMPSON et al., 2004; SULTANA et al., 2000), por ser comestível, não tóxico, de fácil manuseio, por sua biodisponibilidade e biocompatibilidade e baixo custo. Os alginatos facilitam a formação de cápsulas por gelificação ionotrópica ou iônica, resultando em estruturas gelatinosas esféricas formadas pelo intercruzamento de cargas opostas. A gelatinização do alginato é uma técnica adequada para a microencapsulação de probióticos, pois a matriz de gel composta por micropartículas de alginato é capaz de reter bactérias com tamanho de 1 a 3 μm , porque possui estrutura com poros menores do que 17 nm (MARTÍN et al., 2015).

A geleificação do alginato ocorre quando cátions divalentes, como o Ca^{2+} , se unem aos “blocos G”, formando géis por meio de reticulação (PIORNOS et al., 2017), resultando em uma rede tridimensional de filamentos de alginato; o modelo que melhor descreve essa ligação dos filamentos de alginato é descrito como “modelo de caixa de ovos” (ETCHEPARE et al., 2015; SIMPSON et al., 2004). O gel formado é capaz

de resistir a um pH entre 3 e 10, sendo resistente à degradação bacteriana e enzimática, formando uma barreira que retarda a permeação de fluidos ácidos (KLAYRAUNG; VIERNSTEIN; OKONOJI, 2009). Porém, quando em contato com o pH gástrico (pH 3,0) a reticulação sofre hidrólise e perde a capacidade de impedir as combinações eletrostáticas entre o Ca^{+2} e COO^- , que ocorre devido à neutralização do grupo carboxilato do alginato (VEGA-SAGARDÍA et al., 2018).

A estrutura da cápsula, como o tamanho e a forma, são importantes para aplicações em produtos específicos (CHING et al., 2017), pois a adição das cápsulas não deve afetar as características sensoriais dos alimentos (HEIDEBACH et al., 2012). Portanto, é recomendado que o seu diâmetro seja menor que 100 μm (SIMEONI et al., 2014), para não causar aspecto arenoso durante o consumo, e consequente rejeição por parte dos consumidores.

A técnica de emulsão é adequada para encapsulamento de probióticos, mas as superfícies das partículas de gel de alginato são ásperas, compostas de ranhuras grandes e irregulares (CHING et al., 2017). Isso causa uma baixa estabilidade física na presença de agentes quelantes de Ca^{+2} , íons monovalentes e condições ambientais adversas (SMIDSROD; SKJAK-BRAEK, 1990). Diversos estudos têm sido realizados visando a melhoria da estabilidade química e mecânica das cápsulas de alginato (KRASAEKOOPT; BHANDARI; DEETH, 2003), com base na adição de outros constituintes de parede, facilitada pelas propriedades bioadesivas do alginato (SOHAIL et al., 2011). A adição de amido (SULTANA et al., 2000) resulta em géis de alginato melhorados, adequados para o encapsulamento de microrganismos probióticos, com liberação das células metabolicamente ativas no intestino (MORTAZAVIAN et al., 2008).

Kailasapathy (2006) estudou a incorporação de culturas probióticas microencapsuladas com alginato e amido em iogurte. As cápsulas com microrganismos foram produzidas por emulsificação. O autor observou um aumento na sobrevivência de 2 e 1 log no número de células viáveis de *L. acidophilus* e *Bifidobacterium lactis*, respectivamente, quando incorporados na forma encapsulada. A viabilidade celular dos *L. acidophilus* e *B. lactis* quando adicionados na forma livre no iogurte sofreu reduções de 4 e 3 logs, respectivamente. Os microrganismos adicionados na forma encapsulada apresentaram uma redução de 2 logs no período

de 7 semanas de armazenamento a 4 °C. Martin et al. (2013) estudaram a viabilidade de *L. fermentum* CECT5716 encapsulado em alginato e amido não modificado. Eles observaram que o encapsulamento com os dois polímeros teve melhor efeito sobre a viabilidade celular, comparado com o uso apenas do alginato, não havendo perda de viabilidade após 45 dias a 4 °C.

3.6 LEITE FERMENTADO

O mercado de produtos lácteos tem buscado produtos inovadores que possam beneficiar a saúde humana (GALLINA, 2010). A indústria de laticínios tem respondido a essa demanda com a fabricação de diversos alimentos funcionais, adicionando microrganismos probióticos e compostos prebióticos na formulação dos produtos (LOLLO et al. 2015). Dentre os alimentos comumente utilizados para a inserção dos microrganismos probióticos, os produtos lácteos são os meios mais utilizados, com destaque para os leites fermentados (SOCCOL et al., 2013).

Leites fermentados podem ser adicionados de outros compostos alimentícios (como leite reconstituído), e são obtidos pela redução do pH do leite, com sua coagulação. A fermentação se realiza com um ou mais microrganismos, como os *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium* sp, *Streptococcus Thermophilus* e/ou outras bactérias ácido lácticas, que contribuem para a formação das características do produto final. Para que os alimentos possam reivindicar sua característica probiótica, as células microbianas devem estar viáveis, ativas e abundantes no produto durante seu prazo de validade (MAPA, 2007).

O consumo de leite fermentado apresenta benefícios à saúde. A ingestão de 200 g de leite fermentado por dia pode diminuir em 3% o risco de ter diabetes tipo 2, porcentagem que aumenta para 4% ao consumir leite fermentado com baixo teor de gordura (GIJSBERS et al., 2016). Van der Nieuwboer et al. (2015) observaram o consumo de leite fermentado por idosos reduziu a diarreia significativamente (tipo 5, 6 e 7). Nagata et al. (2016) observaram que o consumo de leite fermentado por idosos durante seis meses diminuiu pela metade o número de vezes que estes apresentaram febre, com ganhos paralelos na diminuição da diarreia.

Os microrganismos probióticos, possuem uma vida útil limitada no leite fermentado convencional (CAPELA; HAY; SHAH, 2006), devido à competição entre as bactérias probióticas com outras espécies presentes no produto, causando redução na viabilidade celular (SIDIRA et al., 2017). Neste sentido, a compreensão de fatores intrínsecos e extrínsecos relacionados à elaboração desses alimentos são de extrema importância (GRANATO et al. 2010).

3.7 LEITE FERMENTADO EM PÓ

Os produtos probióticos disponíveis no comércio são principalmente na forma líquida ou semissólida, com baixa viabilidade microbiológica, pois as bactérias não sobrevivem às condições adversas durante a passagem do TGI (KLAYRAUNG; VIERNSTEIN; OKONOJI, 2009).

O leite fermentado em sua forma fresca possui vida útil curta, necessitando de refrigeração durante sua produção e comercialização (entre 2 °C e 4 °C), com seus custos associados (RASIC; KURMANN, 1978; SAKIN-YILMAZER et al., 2014). O desenvolvimento de produtos probióticos secos que garantam a sobrevivência dos microrganismos probióticos é uma real possibilidade (RASIC; KURMANN, 1978; SAKIN-YILMAZER et al., 2014). A secagem permite armazenar menores volumes e pode garantir a viabilidade dos microrganismos por mais tempo, dependendo dos parâmetros de secagem e de armazenamento utilizados (TAMINE; ROBINSON, 1999; KUMAR; MISHRA, 2004; KEARNEY et al., 2009).

Dentre os processos de desidratação, a liofilização é o processo mais utilizado para produzir alimentos probióticos em pó, por não utilizar altas temperaturas de secagem. No entanto, os custos de investimento e de operação da liofilização limitam seu uso em processos de larga escala para produtos de alto valor agregado (KOÇ et al., 2014). O *spray drying* tem sido a alternativa mais usada como opção ao processo de liofilização. É uma técnica viável, econômica e versátil, realizada em equipamentos de fácil operação (MEDEIROS et al., 2014). Porém, as altas temperaturas do ar durante o processo de secagem afetam de forma negativa a viabilidade dos probióticos.

A secagem usando elevadas temperaturas durante o processo pode reduzir substancialmente as contagens da cultura do leite fermentado, e conseqüentemente, seus benefícios para a saúde. A viabilidade do pó de leite fermentado seco é um índice usado para avaliar o grau de dano térmico causado durante a secagem e para otimizar as condições de processamento (KOÇ et al., 2010). Os pós podem ser usados pela indústria como ingrediente para a fabricação de variados produtos alimentícios em confeitarias, indústrias de panificação, de laticínios em misturas de leite fermentado com frutas ou vegetais e misturas instantâneas de bebidas, em bases de sopas e molhos (KUMAR; MISHRA, 2004), podendo também serem consumido de forma direta após a reconstituição (SAKIN-YILMAZER et al., 2014).

Alguns dos parâmetros físicos desejáveis dos pós após a reconstituição são alta solubilidade ou dispersabilidade (rápida molhabilidade e dispersão) (KOÇ et al., 2014). Para se alcançar estabilidade química e microbiológica durante o armazenamento é necessário que produto seco seja armazenado com baixa atividade de água (SCHUCK; DOLIVET; JEANTET, 2012). Após a reconstituição, é essencial que o leite fermentado tenha um comportamento reológico análogo ao do leite fermentado original, uma vez que as propriedades reológicas e estruturais do leite fermentado estão relacionadas com a aceitação do produto pelo consumidor (SAKIN-YILMAZER et al. 2014).

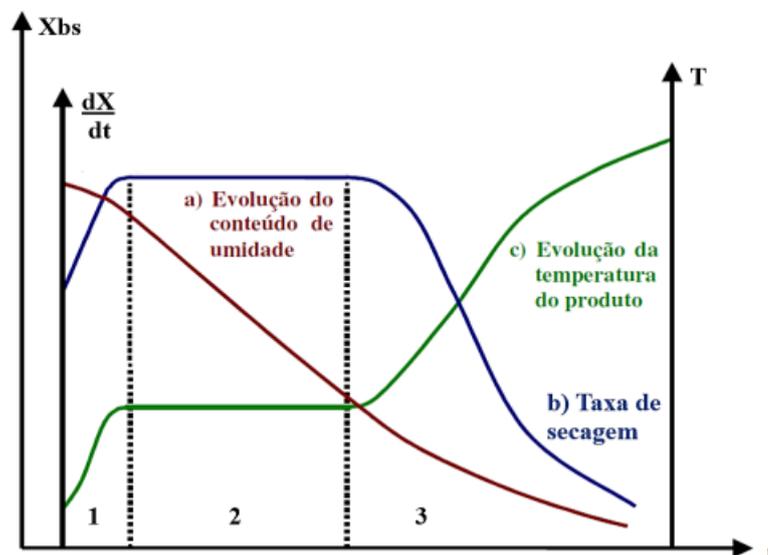
3.8 SECAGEM

A secagem é um dos processos mais antigos para a conservação dos alimentos, proporcionando inúmeras vantagens, como a redução da velocidade de reações físico-químicas e enzimáticas indesejáveis, do crescimento microbiológico, resultando em aumento da vida útil do produto (LABUZA et al., 1972). Além disso, a diminuição do peso e do volume do alimento causados pela secagem reduzem os custos de transporte e armazenamento, o que facilita o uso e diversifica a oferta de vários produtos (FELLOWS, 2018). Assim, a secagem tem sido uma das operações unitárias mais aplicadas na preservação de alimentos (LLAVATA et al., 2020; VEGAMERCADO et al., 2001).

O processo de secagem convencional (estufa de convecção) ocorre devido ao desequilíbrio entre a pressão parcial de vapor da água em um dado material e a pressão parcial de vapor da água no ar que circula na estufa. Durante a secagem, o material a ser seco perde umidade para o ambiente, até que a pressão parcial de vapor de água no material se iguale a pressão parcial do ar (GEANKOPLIS, 1993).

As curvas de evolução do teor de umidade em base seca (X_{bs}), da taxa de secagem (dX/dt) e da evolução da temperatura do produto (T) durante o processo de secagem são apresentados na Figura 3.

Figura 3 – Curvas típicas da secagem com ar quente (secagem convectiva).



Fonte: Adaptado de Park et al. (2007).

A evolução do teor de umidade (X_{bs}) da amostra com o tempo é dada pela curva de secagem, obtida sob condições de processamento definidas (UR, T , velocidade do ar). A taxa de secagem, (dX/dt) é obtida pela derivada da curva de secagem em relação ao tempo. Juntamente X_{bs} e dX/dt , a curva da evolução da temperatura da amostra durante o processo de secagem completa o conjunto de informações fundamentais para entender um processo de secagem (GEANKOPOLIS, 2003).

São observadas três fases durante o processo de secagem, representadas pelas regiões A, B e C da Figura 3. No início do processo de secagem (região A, na Figura 3), o produto está a uma temperatura abaixo à temperatura do ar de secagem. Assim, sua temperatura é rapidamente elevada, até atingir da temperatura de bulbo úmido do ar (isso ocorre principalmente para produtos com alto teor de água inicial).

Esse período inicial de ajuste geralmente é curto e desprezado no cálculo do tempo de secagem. Logo após, ocorre a fase de secagem à taxa constante (região B, na Figura 3), na qual toda a superfície do produto exposta está saturada de água. Do ponto de vista prático, essa água está livre e age como se o produto não estivesse presente. Essa fase de secagem persiste enquanto a água do interior do produto migra para a superfície na mesma velocidade com que evapora na superfície. Portanto, no período de secagem à taxa constante, a taxa de secagem depende exclusivamente da taxa de transferência de calor para o produto que está sendo seco. O final dessa fase ocorre quando a superfície do produto fica insaturada de água e a taxa de secagem começa a diminuir. A umidade a partir da qual isso ocorre tem sido denominada de umidade crítica (X_c), mas é importante destacar que ela é uma característica que depende do produto e das condições de processo (FELLOWS, 2009; FOUST et al., 1982; GEANKOPOLIS, 2003; RAHMAN; PERERA, 2007).

Durante a fase de secagem à taxa decrescente (região 3 na Figura 3), a velocidade de migração da água do interior do produto para a superfície é inferior à velocidade de evaporação da água da superfície. Assim, a temperatura da superfície do produto aumenta, até atingir a temperatura de bulbo seco do ar de secagem. O processo de secagem termina quando o produto atinge a umidade de equilíbrio (X_{eq}), que corresponde à menor umidade que o material pode atingir no processo de secagem, nas condições às quais está submetido (FOUST et al., 1982; GEANKOPLIS, 1993; FELLOWS, 2009).

A secagem é um dos principais métodos de conservação utilizados na indústria alimentícia, mas é preciso selecionar os processos adequados e as condições de tempo e temperatura que reduzam as degradações decorrentes do tratamento térmico inerente (BENLLOCH-TINOCO et al., 2013). Dependendo das técnicas e condições de secagem do leite fermentado, algumas transformações físicas e químicas acontecem, influenciando a qualidade do produto (TONTUL et al., 2018). A exposição do produto a temperaturas elevadas durante a secagem ocasiona danos às células dos microrganismos, que os inativam pela desnaturação de proteínas ou por reações de oxidação. Quando se utiliza temperaturas elevadas, e longos períodos de secagem, a redução do número de microrganismos viáveis pode inativá-los completamente (ALTERTHUM; CARVALHAL, 1999).

Os parâmetros cinéticos clássicos utilizados para expressar a inativação térmica de microrganismos em alimentos são os parâmetros D e z (TOLEDO, 1991; HAUG, 1993). O valor D é o tempo de redução decimal. À uma dada temperatura, D representa o tempo para que a curva de sobreviventes atravesse um ciclo logarítmico. Em outras palavras, D é o tempo que uma amostra deve ser mantida a uma dada temperatura para reduzir para 10% sua concentração inicial de células viáveis. O valor z é o intervalo de temperatura que causa um aumento de dez vezes na velocidade de uma dada reação, como a inativação de um dado microrganismo. Em outras palavras, z pode ser visto como o aumento de temperatura necessário para redução de uma unidade logarítmica no valor de D .

3.8.1 Métodos de secagem

A demanda por alimentos em pó tem crescido, devido principalmente à praticidade oferecida pelos produtos, impulsionando pesquisadores e indústrias a desenvolverem novas tecnologias de secagem, que resultem em alimento com parâmetros de qualidade funcionais, nutricionais e sensoriais desejados (JANGAM; LAW; MUJUMDAR, 2010; ZOTARELLI; CARCIOFI; LAURINDO, 2015).

Os alimentos em pó apresentam diferentes propriedades físicas (tamanho e distribuição de partículas, densidade aparente e densidade das partículas, porosidade do conjunto de partículas, solubilidade, molhabilidade, dispersibilidade, entre outras), que são importantes para sua estabilidade no armazenamento e para suas diferentes aplicações. Essas propriedades dependem das condições de processamento durante a secagem e moagem, quando for o caso (VISSOTTO et al., 2006).

Algumas das propriedades físicas de um produto em pó que são importantes para sua reconstituição são o teor de umidade, a porosidade intrínseca das partículas, a distribuição de tamanhos dessas partículas e a densidade aparente do conjunto de partículas, além da dispersibilidade em água (LEÓN-MARTÍNEZ; MÉNDEZ-LAGUNAS; RODRÍGUEZ-RAMÍREZ, 2010).

A secagem de alimentos pode ser realizada por diversos métodos, e os fatores que determinam a escolha do secador a ser utilizado incluem a natureza do produto, as condições de operação, volume processado e os fatores econômicos (CHUA;

CHOU, 2003; FELLOWS, 2009). A seguir, apresenta-se uma breve abordagem sobre a secagem por liofilização, *spray-drying* e por método de espalhamento (*Refractance Window*, *Cast-Tape Drying* e *Cast-Tape Drying* sob vácuo).

3.8.1.1 Liofilização

Na liofilização, o alimento é inicialmente congelado e, em seguida, o vapor de água é removido por sublimação em uma câmara de vácuo, em pressões de vapor e temperaturas abaixo do ponto triplo da água (ORDÓÑEZ, 2005). O calor de sublimação é fornecido por condução ou por radiação, emitida por placas aquecidas, no interior da câmara de sublimação. Se a etapa de congelamento for realizada adequadamente, a água congelada muda de fase sem causar alterações na estrutura celular do alimento (BOSS, 2004).

As baixas temperaturas causam pouca perda de nutrientes e a estrutura não danificada possibilita reidratação rápida e completa do produto. Por isso, é um dos métodos comumente utilizados nas indústrias de alimentos para a secagem de produtos de alto valor agregado e termosensíveis, preservando a maioria das propriedades do produto (OIKONOMOPOULOU et al., 2011). Porém, o alto custo de investimento com equipamentos e o alto gasto com energia para a desidratação são desvantagens desse processo (MARQUES; COSTA, 2015).

3.8.1.2 *Refractance Window (RW)* e *Cast-Tape Drying (CTD)*

RW é um método de secagem em que suspensões líquidas são espalhadas sobre uma esteira de poliéster que flutua sobre um banho de água aquecida em temperaturas pré-determinadas. O produto seco sai na forma de filmes, flocos ou pó (após processo de moagem) (DURIGON et al., 2018). O fluxo de calor proveniente da água quente chega ao produto a ser seco pelo mecanismo de condução (ABONYI et al., 2002; NINDO; TANG, 2007). Teoricamente, o processo de RW pode utilizar os três mecanismos de transferência de calor: condução, convecção e radiação para secagem ou concentração de alimentos líquidos e purês. Porém, Zotarelli et al. (2015) demonstraram que a radiação no processo de secagem por RW contribui com menos

de 5 % do calor total necessário, e que o processo é controlado pelo mecanismo de condução de calor. Portanto, esse processo de secagem pode ser denominado como um método de secagem condutivo de soluções ou suspensões espalhadas sobre um suporte não transparente à radiação, o que foi denominado de *Cast-Tape Drying* (CTD) pelo grupo de pesquisa de secagem da UFSC.

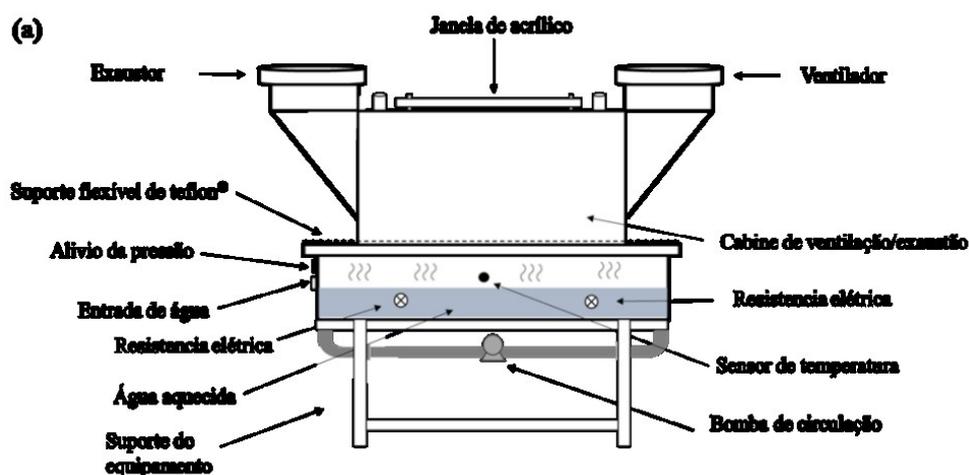
Como a radiação térmica não é importante para o processo de secagem, o suporte utilizado na secagem por RW pode ser substituído por outros com menor energia livre superficial, como é o caso do politetrafluoretileno (Teflon®), o qual facilita a retirada dos materiais secos (DURIGON et al., 2018). Este método de secagem tem sido utilizado para a secagem de polpa de manga (ZOTARELLI et al., 2017, SIMÃO et al., 2019), goiaba (FRABETTI; DURIGON; LAURINDO, 2018), abacaxi (SIMÃO et al., 2021), morango (FRABETTI et al., 2021 e SIMÃO et al., 2022), tomate (DURIGON et al., 2016, 2018), produtos lácteos como iogurte (COSTA, 2017) entre outros.

A secagem de iogurte por *Cast-tape Drying* (expressão mais geral que RW) foi relatada por Tontul et al. (2018) e por Costa (2017). O último realizou a secagem de iogurte por CTD sob vácuo, utilizando temperaturas de secagem de 50 °C, resultando em produto com a_w do produto igual a 0,56. O pó de iogurte secado por *Cast-Tape Drying* sob vácuo, (V-CTD) apesar de apresentar 92% de sobrevivência logo após a secagem, em 21 dias de armazenamento a 25 °C, perdeu completamente a viabilidade celular (COSTA, 2017). Para a secagem por RW, a viabilidade das culturas de *L. delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* e *S. thermophilus* foi dependente da temperatura de secagem e armazenamento (TONTUL et al., 2018). Os autores observaram que o iogurte em pó preservou a viabilidade dos microrganismos durante o armazenamento por 90 dias a 4 °C, enquanto no iogurte líquido as células perderam a viabilidade em 30 dias de armazenamento a 4 °C.

No processo de secagem por CTD é recomendado que a temperatura da água seja inferior à de ebulição, para evitar a formação de bolhas, as quais prejudicam a transferência de calor (NINDO et al., 2004). O uso de temperaturas mais brandas favorece a secagem de culturas de produtos lácteos, tais como as do iogurte (KUDRA; MUJUMDAR, 2009). Estima-se que esse método tenha um custo de implantação de um terço do valor da implantação de um *spray dryer* (NINDO; TANG, 2007).

Um aparato experimental de CTD que opera em batelada está representado na Figura 4.

Figura 4 – a) Esquema do aparato experimental do CTD que opera em batelada; b) Fotografia do equipamento de CTD.



(b)



Fonte: Silva, 2021.

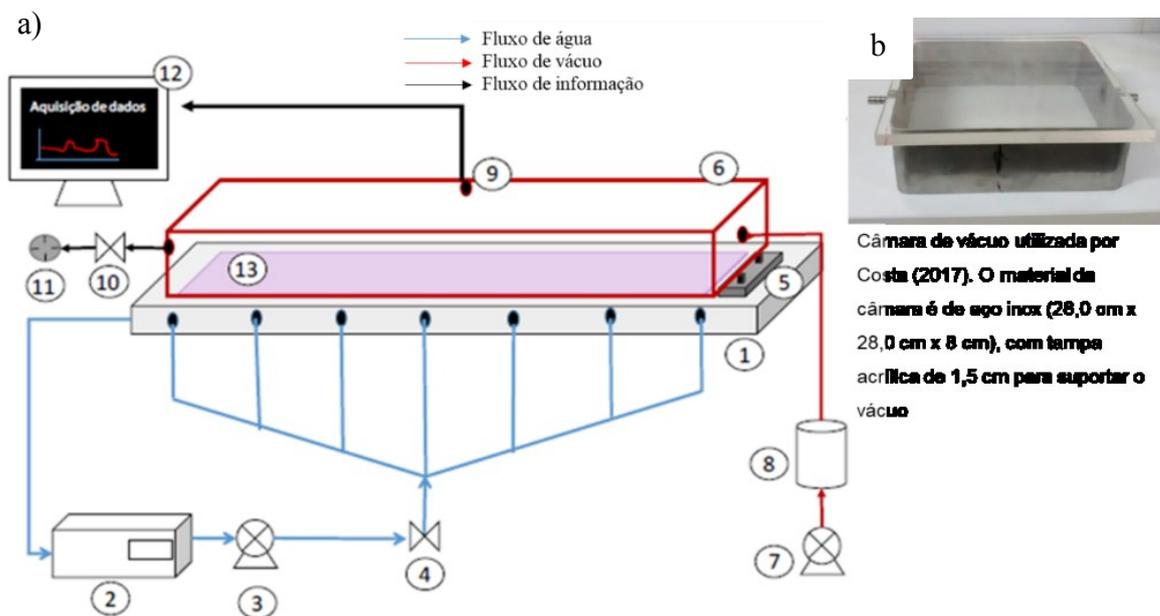
3.8.1.3 *Cast-Tape Drying* sob vácuo (V-CTD)

O equipamento de *Cast-Tape Drying* foi modificado usando uma câmara de vácuo acoplada na parte superior da superfície onde os materiais são espalhados. A secagem sob vácuo permite a evaporação da água em temperaturas mais amenas, diminuindo a velocidade de reações químicas e a inativação microbiana (COSTA, 2017). O método de secagem por *Cast-Tape Drying* sob vácuo pode ser conveniente

para a secagem de produtos que sejam sensíveis à temperatura e ao oxigênio, como aqueles que possuem microrganismos probióticos.

Costa (2017) realizou a secagem de iogurte comercial por *Cast-Tape Drying* sob vácuo, que foi espalhado com espessura de 2 mm sobre o suporte mantido a 50 °C. Na Figura 5 é apresentada a câmara de vácuo usada por Costa, (2017). A secagem foi iniciada com pressão de 10 kPa, mas foi reduzida para 3 kPa após o início do período de secagem à taxa decrescente. Essa estratégia de operação garantiu que a temperatura do produto permanecesse entre 28 °C e 35 °C durante a secagem. A viabilidade celular nos pós de iogurte secos por *Cast-Tape Drying* nessas condições foram tão altas quanto as encontradas para o produto liofilizado. Porém, as células perderam a viabilidade após trinta dias de armazenamento à temperatura ambiente. Assim, o processo mostrou ser uma alternativa viável à liofilização, a depender de modificações das condições de processo que garantam a viabilidade celular por maiores períodos.

Figura 5 – a) Esquema do equipamento de V-CTD b) Câmara de vácuo usada no trabalho de Costa (2017).



1- Suporte metálico vazado para circulação de água; 2- Banho termostático; 3- Bomba de circulação de água; 4-Válvula de controle da vazão; 5- sistema de espalhamento com espessura controlada

(*doctor blade*); 6- Câmara de vácuo; 7- Bomba de vácuo; 8- Trapping; 9- Sensor de temperatura por infra-vermelho; 10- Válvula T de controle de vácuo; 11- Vacuômetro (transdutor de pressão); 12- Computador conectado a um sistema de aquisição de dados.

3.9 ATIVIDADE DE ÁGUA (a_w)

A água é um componente de grande relevância em um alimento e um fator diretamente associado à sua vida útil. No entanto, o mais importante é a maneira em que a água se encontra no produto, que resultará na sua atividade. O conhecimento da atividade da água em um alimento é crucial para a determinação das condições de armazenamento que garantam da qualidade dos produtos secos, como é o caso dos pós (SILVA, 2008).

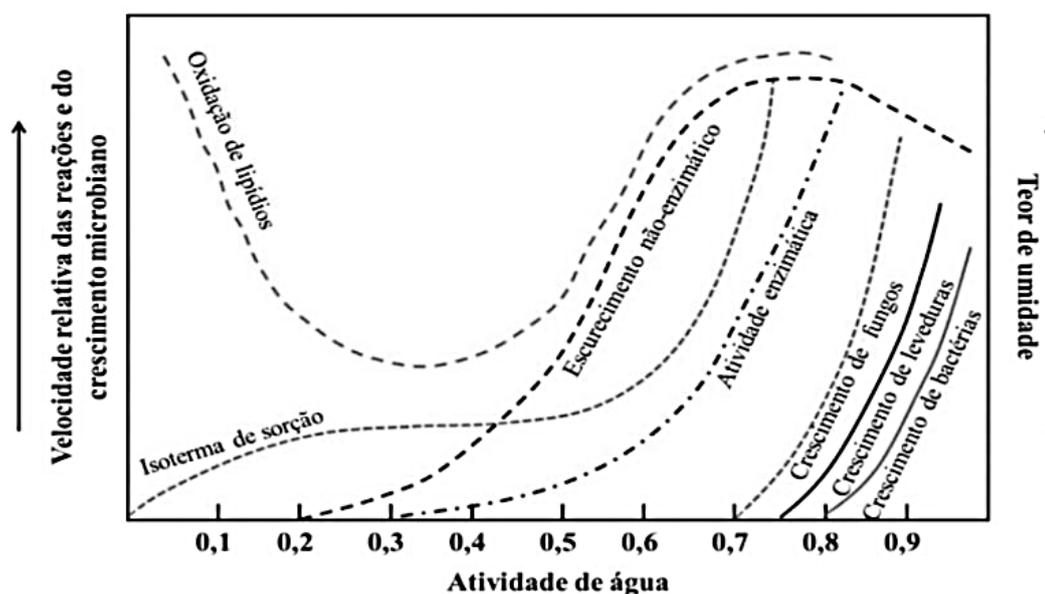
Por definição, a atividade de água em um alimento é a razão entre a pressão parcial de vapor da água no alimento (P) e a pressão de vapor da água pura (P_0), considerando as mesmas condições de temperatura e pressão (FENNEMA; DAMODARAM; PARKIN, 2010, JANGAM; MUJUMDAR, 2010), como mostrado na Equação 1.

$$a_w = \frac{P}{P_0} \quad [1]$$

Nos alimentos com a_w reduzidas (abaixo de 0,2) há inibição de quase todas as reações, mas essa baixa atividade de água expõe o produto às reações de oxidação lipídica (LABUZA et al., 1972). Nesta a_w , o alimento não tem a monocamada de moléculas de água adsorvidas, expondo os íons metálicos presentes naturalmente no alimento, que são iniciadores da oxidação lipídica (BELITZ; GROSCH, 1997). Portanto, produtos com elevada quantidade de lipídeos são mais estáveis em a_w normalmente entre 0,3 e 0,5, situação em que existe a monocamada de água adsorvida. Valores de atividade de água maiores que 0,5 levam a maiores velocidades das reações de escurecimento não enzimático, bem como para atividade enzimática. Além dessas reações, a a_w nos alimentos é essencial para saber os microrganismos que podem crescer nos produtos. Abaixo de 0,9, o crescimento de bactérias é limitado.

Enquanto leveduras têm seu crescimento limitado em a_w abaixo de 0,8 e fungos abaixo de 0,7, conforme apresentado na Figura 6.

Figura 6 – Velocidade de reações químicas e crescimento microbiano em função da atividade de água no alimento.



Fonte: Adaptado de Labuza et al. (1972).

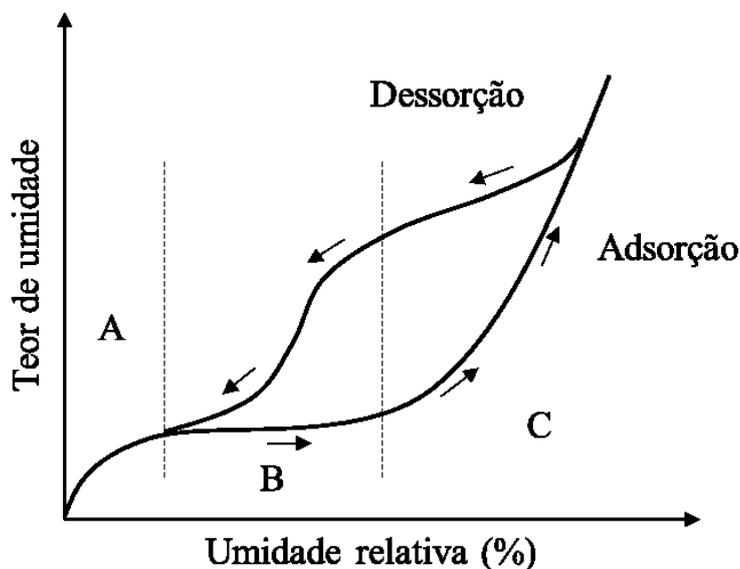
3.10 ISOTERMAS DE SORÇÃO DE UMIDADE

As isotermas de sorção de umidade descrevem a relação entre a atividade de água e a umidade de equilíbrio do produto com o ar circundante, a uma dada temperatura (LABUZA; ALTUNAKAR, 2020; FELLOWS, 2009; JANGAM; MUJUMDAR, 2010). Alimentos em pó têm alta área superficial específica e são propensos a ganhar água do ambiente e com isso podem ficar pegajosos e endurecer. As isotermas de sorção de umidade dos pós permitem obter informações sobre as etapas de processamento. Elas também são úteis pra definir as condições adequadas de embalagem e armazenamento e ajudam a compreender as mudanças físico-químicas que ocorrem com o produto (FARAHNAKY; ANSARI; MAJZOOBI, 2009; PAVAN, SCHMIDT; FENG, 2012).

Diversos são os métodos usados para determinar as isotermas de sorção de umidade, sendo o método gravimétrico estático o mais empregado, por ser de baixo

custo e simples aplicação. Esse método consiste no acondicionamento do produto em recipientes fechados com soluções salinas saturadas, que produzem ambientes com diferentes umidades relativas (JANGAM; MUJUMDAR, 2010). As isotermas de sorção podem ser obtidas a partir de processos de adsorção (reidratação de uma amostra seca) ou processos de dessorção (desidratação de uma amostra úmida), sendo que a diferença entre essas curvas é definida como histerese (SAHIN; SUMNU, 2006). Na Figura 7 é mostrada uma isoterma típica de sorção de umidade, dividida em três regiões distintas, as quais dependem do tipo de interação da água com os componentes do alimento.

Figura 7 – Isoterma típica de sorção.



Fonte: Adaptado de Labuza e Altunakar (2020).

Na região (A), o teor de água é baixo e ela está fortemente ligada, permitindo principalmente reações de oxidação com sítios ativos expostos, principalmente quando a monocamada de adsorção não está completa. Na região (B), a água está com ligações mais fracas, adsorvida nas multicamadas acima da monocamada e condensada em capilares finos. Na região (C), a água encontra-se em capilares maiores, fracamente ligada, disponível como solvente e para reações (BARBOSA-CÁNOVAS et al., 2007; FELLOWS, 2009; SAHIN; SUMNU, 2006).

Diversas equações têm sido propostas para a modelagem de isotermas de sorção de produtos alimentares. Dentre estes, uma das mais usadas para ajustar as curvas de isotermas de sorção de umidade de alimentos em uma faixa de atividade de água entre 0 a 0,95, é o modelo de GAB (Guggenheim-Anderson-de Boer), como demonstrado na Equação 2 (LABUZA; RAHMAN, 2007).

$$X_{eq} = \frac{X_m \cdot C \cdot k \cdot a_w}{(1 - k \cdot a_w) \cdot (1 - k \cdot a_w + C \cdot k \cdot a_w)} \quad [2]$$

A UR à qual uma amostra foi condicionada corresponde, no equilíbrio, à sua a_w , dada em decimal ($a_w = UR/100$), enquanto o teor de umidade da amostra é chamado de teor de umidade de equilíbrio, X_{eq} , expresso em (g.g⁻¹, b.s.). A umidade da monocamada é representada por X_m , dada em (g.g⁻¹ b.s.). C é a constante de Guggenheim, relacionada à energia de interação das moléculas na monocamada com a matriz sólida, enquanto k é a constante relacionada à energia de interação das moléculas adsorvidas nas multicamadas.

As isotermas de sorção de umidade podem ser classificadas em três tipos (Figura 8), de acordo com a variação de umidade de equilíbrio com a atividade de água do produto (BRUNAUER et al., 1940). As isotermas mais encontradas para produtos alimentícios são as do tipo II e III (LABUZA; ALTUNAKAR, 2020). Na curva tipo II, a água está pouco ligada ao alimento e comumente presente em pequenos capilares (BARBOSA CÁNOVAS et al., 2007). A de tipo III é típica de produtos ricos em componentes solúveis, como açúcar ou sal (RAHMAN, 2008), com a água presente em grandes capilares, que pode ser considerada como água livre (BARBOSA CÁNOVAS et al., 2007).

Figura 8 – Tipos de isotermas de sorção.



Fonte: Adaptado de Brunauer (1945).

A análise da literatura apresentada mostra a necessidade de maiores estudos quanto a obtenção de produto lácteo seco adicionado de probiótico atrelado ao encapsulamento, a fim de conferir maior vida útil, sendo de grande importância para a indústria alimentícia e para aqueles que o consumirem.

4 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Propriedades Físicas de Alimentos (PROFI) do Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos (EQA) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

4.1 MATERIAIS

Leite desnatado homogeneizado e esterilizado (Aurora, Brasil) e leite em pó desnatado instantâneo (Nestlé, Brasil) foram adquiridos em comércio local. A cepa de *Streptococcus thermophilus* LBP UFSC 051, origem de Queijo Pecorino Toscano para a obtenção do leite fermentado, foi adquirido do Laboratório de Tecnologia de Alimentos e Bioprocessos do Departamento de Ciências e Tecnologia de Alimentos da UFSC e a cepa probiótica de *L. fermentum* LBP UFSC 017 é da Coleção de Microorganismo de Referência em Vigilância Sanitária (CMRVS). Os materiais de preparo das cápsulas, como amido de mandioca pré-gelatinizado (Marechal Cândido Rondon, Paraná), alginato de sódio (Êxodo científica, Brasil), carbonato de cálcio (Êxodo científica, Brasil), óleo de girassol (Bunge, Santa Catarina, Brasil), Tween 80 (SYNTH,

Presidente Prudente, São Paulo, Brasil), ácido acético glacial (Vetec, Brasil) foram obtidos em empresas que comercializam produtos químicos e mercados locais.

4.2 MANUTENÇÃO E PREPARO DA CULTURA PROBIÓTICA

A reativação para a manutenção da cultura probiótica de *L. fermentum* foi realizada em ágar De Man, Rogosa e Sharpe (MRS) (Merck, Germany) por 18 h a 37 °C, até a fase estacionária. Em seguida, a cultura foi distribuída em microtubos (eppendorf) e um crioprotetor (glicerol 20%) foi adicionado antes do armazenamento em ultra freezer (-60 °C) até sua utilização (RIBEIRO, 2011).

Para obtenção da suspensão da cultura probiótica, após o crescimento, a cultura foi transferida para tubos falcon de 50 mL (Centrífuge 5804 R, eppendorf, Brasil) e centrifugados a 7000 g por 10 minutos, a 4 °C. O sobrenadante foi descartado e o concentrado de células foi suspenso em água peptonada 0,1% (p/v) para a lavagem das células; essa etapa do processo foi realizada duas vezes.

A contagem de células foi determinada por meio de plaqueamento em profundidade em placas de Petri, utilizando-se ágar MRS (DE MAN et al., 1960). As placas foram incubadas a 37 °C por 72 h. A suspensão de células foi utilizada subsequentemente na produção das microcápsulas.

A pesquisa foi dividida em 3 estudos, como descritos a seguir.

4.3 ESTUDO I - SECAGEM DE LEITE FERMENTADO POR CAST-TAPE DRYING: INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DO ENCAPSULAMENTO DO *L. FERMENTUM* NA VIABILIDADE CELULAR APÓS O PROCESSAMENTO.

Na Figura 9 está apresentado o esquema organizacional do Estudo I.

Figura 9 – Esquema organizacional do Estudo I: Efeito da temperatura de secagem do leite fermentado contendo *L. fermentum*, livre ou encapsulado, elaborado pelo processo *Cast-Tape Drying*.

ESTUDO I
Efeito da temperatura de secagem do
leite fermentado contendo *L.*
Fermentum, livre ou encapsulado,
elaborado pelo processo CTD

CTD- *Cast tape drying*; RE- Rendimento de encapsulamento; a_w - atividade de água; DRX- Difração de raios X; DSC- Calorimetria diferencial de varredura

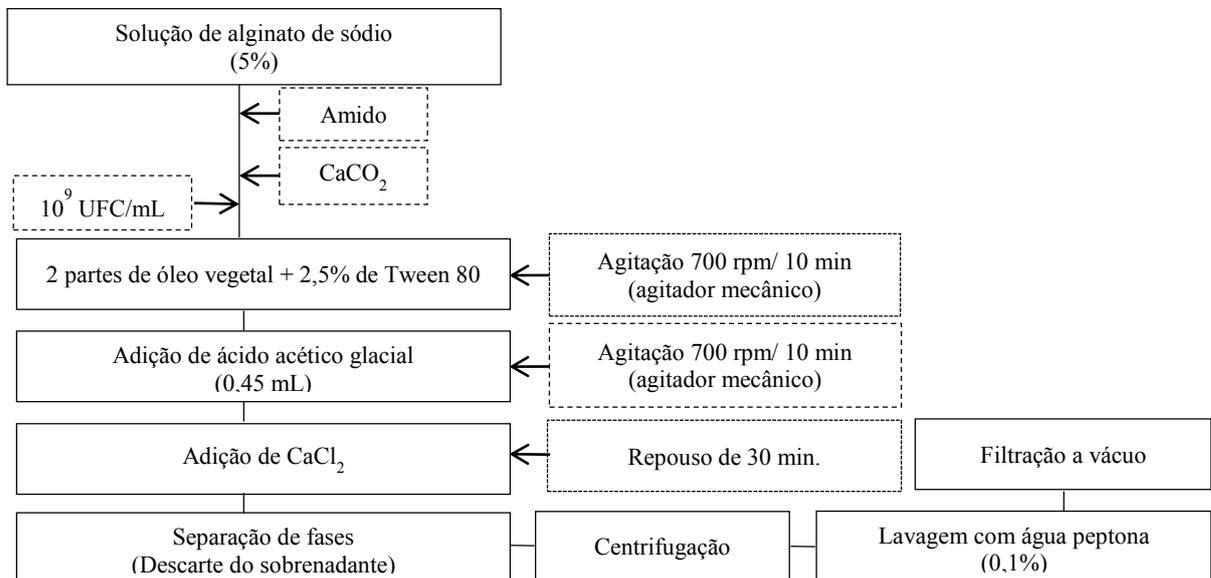
4.3.1 Encapsulação do *L. fermentum*

O *L. fermentum* foi encapsulado pela técnica de emulsificação/gelificação interna descrita por Martin et al. (2013), com modificações. Uma mistura de alginato de sódio (5 g/100 mL) com 0,4 g de amido/mL foi misturada com 10 mL de suspensão (aproximadamente 10^9 UFC/mL de *L. fermentum*), e 0,04 mol/L de CaCO_3 . A fase contínua foi composta por 2 partes de óleo de girassol e 2,5 % (p/v) de Tween 80®, adicionado como emulsificante.

Todos os materiais foram homogeneizados a 700 rpm durante 10 min em agitador mecânico (IKA RW20 digital, Rio de Janeiro, Brasil) para formar uma emulsão de água em óleo. Com agitação contínua, foi adicionado 0,450 mL de ácido acético glacial à emulsão para iniciar a gelificação interna. Após 10 min sob agitação, as micropartículas foram separadas da dispersão oleosa, adicionando-se solução de cloreto de cálcio (0,45 mol/L). Deixou-se reticular as cápsulas à temperatura ambiente (24 °C) durante 30 min, antes de se realizar centrifugação a 5000 rpm e 20 °C por 5 min (Centrífuga Kasvi, k14- 5000^a, Rio de Janeiro, Brasil). A fase sólida contendo as cápsulas foram coletadas e lavadas com 100 mL de peptona estéril (20 g/L) por filtração a vácuo e armazenadas a 4 °C, até a incorporação ao leite fermentado.

Todos os materiais de laboratório usados foram esterilizados em autoclave (121 °C/15 min), e as microcápsulas foram produzidas em ambiente asséptico.

Figura 10 – Fluxograma de obtenção de microcápsula por emulsão.



Fonte: Martin et al., 2013

4.3.2 Caracterização das microcápsulas

As microcápsulas contendo o microrganismo probiótico foram caracterizadas de acordo com os métodos a seguir:

4.3.2.1 Determinação da umidade e atividade de água (a_w)

A umidade foi determinada pelo método gravimétrico em estufa sob vácuo (TECNAL, modelo TE- 395, Piracicaba, Brasil) a 70 °C (A.O.A.C, 2018). As análises foram realizadas em triplicata. A a_w das amostras foi determinada em higrômetro digital (Aqualab Modelo - Series 3 TE, Decagon Devices, Inc., Pullman, EUA), a 25 °C. As análises foram realizadas em triplicata.

4.3.2.2 Eficiência de Encapsulação (EE)

A eficiência de encapsulação (EE) é uma medida combinada da eficácia de retenção e sobrevivência de células viáveis durante o procedimento de encapsulação, e foi calculado pela Equação 3:

$$EE = \frac{N}{N_0} \times 100 \quad [3]$$

onde, N é o número de células viáveis liberadas das micropartículas e N_0 é o número de células livres adicionadas à mistura de biopolímeros durante a produção das micropartículas.

A viabilidade das bactérias encapsuladas foi avaliada de acordo com o método citado por Martin et al. (2013). Um grama de cápsulas foi ressuspenso em 10 mL de tampão fosfato (0,1 M, pH 7,0), seguido por homogeneização com um agitador orbital a 300 rpm. A contagem de células viáveis foi realizada por meio de plaqueamento em ágar MRS e incubação a 37 °C durante 72 h em condições anaeróbias

4.3.2.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A microestrutura das cápsulas, interna e externa, foi avaliada conforme metodologia citada por Ribeiro (2011), utilizando microscópio óptico e microscopia eletrônica de varredura (MEV). A distribuição de tamanho e a morfologia das amostras foram avaliadas por MEV, utilizando microscópio eletrônico de varredura (JEOL, JSM-6390LV, Japão) com sensor de elétrons secundários retroespalhados, localizado no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal de Santa Catarina (LCME/UFSC) (10kV, ampliação de 500 e 2000 vezes). As cápsulas foram liofilizadas e fixadas em *stubs*, seguidas por recobrimento com ouro em evaporador Baltzer (BaltecSCD50, Áustria).

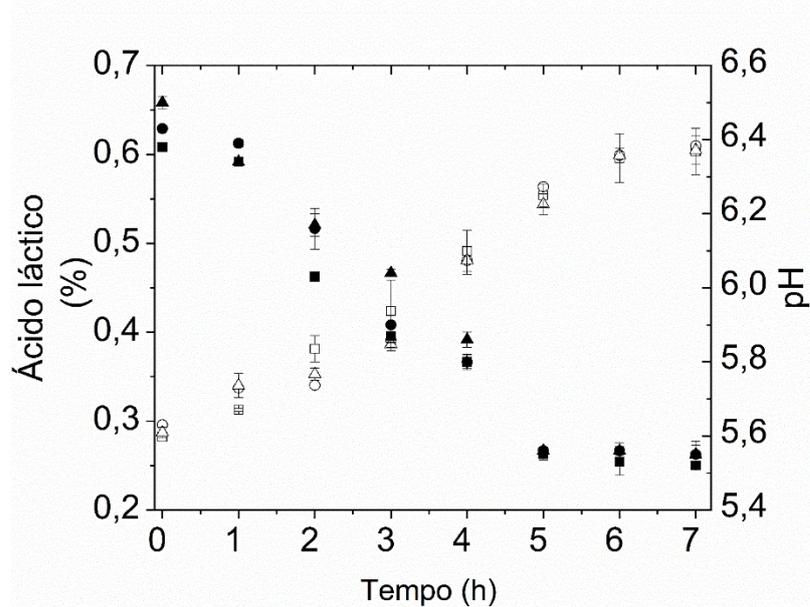
4.3.2.4 Difração de raios X (DRX)

A determinação da cristalinidade das microcápsulas contendo o microrganismo foram realizadas utilizando difratômetro de raio-X, marca Xpert PRO MPD (Multi-Purpose Diffractometer), locado no Laboratório Multiusuário de Difração de Raios X (LDRX), no centro de Ciências Físicas e Matemáticas da Universidade Federal de Santa Catarina (CFM/UFSC). Os dados de difração foram coletados à temperatura ambiente, sob o ângulo 2θ variado de 1 a 90° , com intervalos de $0,05^\circ$ a cada 1 s.

4.3.3 Preparo do leite fermentado

O leite fermentado foi elaborado de acordo com Khanal e Lucey (2018), com adaptações. Para a fermentação, o leite desnatado foi padronizado a 13% de sólidos totais pela adição de leite em pó desnatado. Uma cultura mãe foi obtida, a qual consiste em uma alíquota de 1 mL da cultura de *S. thermophilus* em 200 mL de leite desnatado padronizado, fermentado a 45°C por 18 h. Em seguida, 200 mL da cultura mãe foi adicionada ao leite desnatado padronizado (1000 mL), o qual foi submetido à fermentação a 45°C , com acompanhamento do pH e do teor de ácido láctico (Figura 11), conforme metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008). A partir de 6 h de fermentação, o pH foi constante e igual a 5,5, sendo esse o critério estabelecido para o final da fermentação. Após esse período, o leite fermentado foi submetido à refrigeração (5°C) para cessar a fermentação.

Figura 11 – Cinética da concentração de ácido láctico (símbolos abertos), pH (símbolos fechados) e desvio padrão (Traços verticais) durante a fermentação do leite fermentado por *S. thermophilus*. Realizada em triplicata.



Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

Os microrganismos probióticos foram adicionados ao leite fermentado na forma livre ou encapsulada, em concentrações de 10^9 UFC/mL, previamente ao processo de secagem.

4.3.3.1 Caracterização do leite fermentado

4.3.3.1.1 Sólidos solúveis totais

A medida do teor de sólidos solúveis totais (triplicata) nas amostras de leite fermentado foi realizada utilizando refratômetro óptico manual (Atago, modelo PALBX/RI, Tóquio, Japão), expresso em °Brix.

4.3.3.1.2 Potencial de hidrogênio (pH)

O pH da amostra de leite fermentado foi medido (triplicata) com um pHmetro (Testo, modelo 205, Alemanha).

4.3.3.1.3 Acidez em ácido láctico

A análise de acidez em ácido láctico foi realizada por titulometria, em triplicata (IAL, 2008).

4.3.4 Processo de secagem

Leites fermentados *S. thermophilus* contendo *L. fermentum* livre (LFL) ou encapsulados (LFE) foram desidratados pelo processo de secagem CTD Como apresentado a seguir.

4.3.4.1 Cast-Tape Drying (CTD)

O dispositivo experimental de secagem denominado CTD é um processo de secagem condutivo, no qual uma suspensão ou solução é espalhada sobre um suporte flexível impermeável (Lençol Armalon® Standard, teflonado de grau alimentício, Indaco, São Paulo, Brasil), usando um *doctor blade*, dispositivo que permite o espalhamento da amostra em espessuras milimétricas controladas. A energia térmica necessária à secagem ocorre por condução através do suporte flexível, que é aquecido em sua face inferior por água quente ou vapor. A umidade evaporada da suspensão (leite fermentado, no presente estudo) é retirada por um fluxo de ar realizado em um túnel existente na parte superior do secador. A umidade relativa e a temperatura de entrada do ar no túnel foram $68 \pm 6\%$ e $24 \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$, respectivamente.

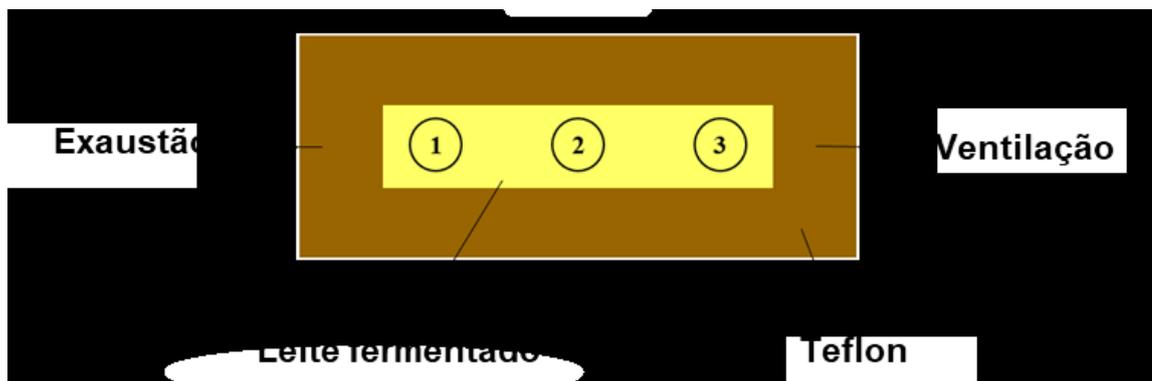
No processo CTD a temperatura de secagem é controlada por meio da temperatura da água no interior do reservatório que fica abaixo do suporte flexível. Os experimentos de secagem foram realizados com a água aquecida e mantida nas temperaturas de $50\text{ }^\circ\text{C}$, $60\text{ }^\circ\text{C}$, $70\text{ }^\circ\text{C}$, $80\text{ }^\circ\text{C}$ e $98\text{ }^\circ\text{C}$. O vapor liberado pela água fica no espaço existente entre sua superfície e a face inferior da esteira, que é aquecida e aquece a suspensão durante todo o processo de secagem.

As amostras de leite fermentado foram espalhadas com espessura de 2 mm e o final do processo de secagem foi considerado quando as amostras atingiram valores de a_w próximos de 0,4.

4.3.5 Cinéticas de secagem

As cinéticas de secagem foram obtidas para os experimentos realizados com CTD. Para a determinação das curvas de secagem realizadas a diferentes temperaturas, amostras foram retiradas, em tempos pré-determinados, da camada de leite fermentado probiótico espalhada no suporte flexível. Na Figura 12 são apresentadas as regiões distintas de coleta das amostras.

Figura 12 – Representação das regiões (1, 2 e 3) de coleta das amostras para obtenção das curvas de secagem por CTD.



Fonte: Adaptado de Simão et al. (2019).

As análises de umidade e a_w foram realizadas como descrito no item 4.3.2.1. Enquanto para construir as curvas cinéticas de viabilidade, aproximadamente 1 g de amostra foi coletada por meio de uma espátula. A contagem dos microrganismos foi realizada usando diluição em série em água peptonada (0,1% p/v). O microrganismo *L. fermentum* foi plaqueado em profundidade com dupla camada de ágar MRS, e as placas incubadas invertidas a 37 °C, durante 48 h (MARTIN et al., 2013).

As determinações das cinéticas de secagem foram realizadas em triplicata.

4.3.5.1 Modelagem matemática das curvas de inativação de *L. fermentum* durante a secagem

A partir dos dados de viabilidade do *L. fermentum* durante as secagens em diferentes temperaturas no CTD, os modelos log-linear e de Weibull foram ajustados aos dados experimentais para descrever as curvas de inativação do probiótico. Os parâmetros do modelo log-linear foram estimados a partir da curva de log D em função da temperatura, valor z .

4.3.5.1.1 Modelo Log-linear

Dado um tratamento letal, o modelo Log-linear admite que todas as células e esporos na população têm a mesma resposta e que sua cinética de inativação é descrita por uma cinética de primeira ordem (SCHAFFNER; LABUZA, 1997). A velocidade de inativação do número de microrganismos pode ser descrita, como (Equação 4):

$$\frac{dN}{dt} = -kN \quad [4]$$

onde k é a constante de reação e N é a concentração de microrganismos.

Considerando-se as condições iniciais como: $t_0=0$, $N_0=N_0$, e integrando dentro de um determinado intervalo de tempo (0 a t), no qual foi aplicado o tratamento em condições constantes, obtém-se a Equação 5.

$$\ln N - \ln N_0 = -kt \quad [5]$$

Na forma exponencial, a Equação 5 pode ser escrita pela Equação 6.

$$\frac{N}{N_0} = e^{-kt} \quad [6]$$

Logo, a inativação dos microrganismos ocorre de forma exponencial. Escrevendo a equação 6 em logaritmo decimal (Equação 7).

$$\log \frac{N}{N_0} = \frac{-kt}{2,303} \quad [7]$$

O parâmetro D (Tempo de Redução Decimal) é o intervalo de tempo à temperatura constante de tratamento para uma redução de 90% da população microbiana, inicialmente presente no produto e está descrito na Equação 8.

$$\frac{k}{2,303} = \frac{1}{D} \quad [8]$$

Substituindo a equação 8 na equação 7, encontra-se a equação de Ralm, que descreve a curva de sobreviventes (Equação 9):

$$\log \frac{N}{N_0} = \frac{-t}{D} \quad [9]$$

4.3.5.1.2 Modelo de Weibull

O modelo de Weibull, para curvas de sobrevivências não log lineares, está representado na Equação 10.

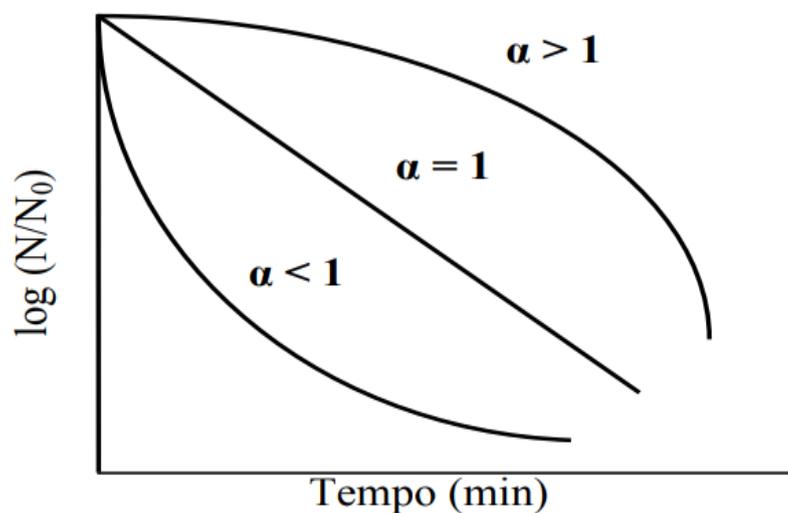
$$\log \left(\frac{N(t)}{N_0} \right) = - \left(\frac{t}{\beta} \right)^\alpha \quad [10]$$

onde N é o número de microrganismos no instante t ; N_0 é o número de microrganismos no tempo inicial; α é o fator de forma; β é o fator de escala, e pode ser definido como “o tempo para uma redução decimal”, se $\alpha = 1$.

No modelo de Weibull, a direção da concavidade da curva de sobreviventes está relacionada com as diferentes vias de inativação dos microrganismos, como podemos observar na Figura 13. Curvas com concavidades direcionadas para baixo ($\alpha > 1$) expressam uma população que diminui progressivamente, e o tempo

necessário para destruir a mesma fração de microrganismos reduz com o passar do tempo. Concavidades direcionadas para cima ($\alpha < 1$), com uma cauda, indicando que a população de microrganismos contém células que morrem rapidamente. Porém, à medida que o processo de destruição ocorre, os sobreviventes são os mais resistentes, ocasionando um tempo maior de inativação (PELEG, 2006; ARAGAO et al., 2007).

Figura 13 - Curvas de sobrevivência descritas pelo modelo de Weibull para diferentes valores para o fator forma α .

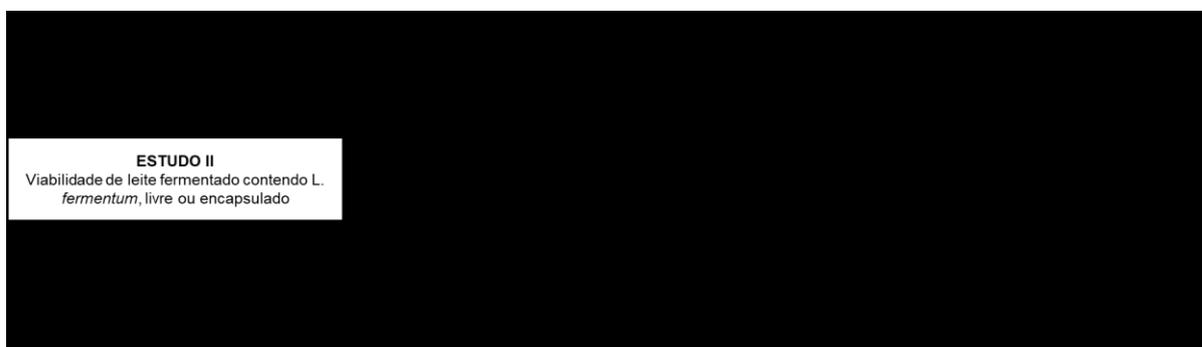


Fonte: Haberbeck, 2011.

4.4 ESTUDO II - VIABILIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE FERMENTADO EM PÓ CONTENDO L. FERMENTUM, SECADO POR DIFERENTES MÉTODOS E ARMAZENADO EM DIFERENTES UR

Na Figura 14 está apresentado o esquema organizacional do Estudo II.

Figura 14 – Esquema organizacional do Estudo II: Viabilidade microbiológica do leite fermentado em pó, contendo *L. fermentum* livres ou encapsulados, desidratado por diferentes métodos de secagem e armazenado em diferentes UR (26%, 48% e 67%).



Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

4.4.1 Métodos de secagem

Após a obtenção dos leites fermentados por *S. thermophilus* adicionados de *L. fermentum* livre (LFL) ou encapsulado (LFE), eles foram desidratados por diferentes métodos de secagem, ou seja: liofilização, *Cast-Tape Drying* e *Cast-Tape Drying* sob vácuo, como apresentados a seguir.

4.4.1.1 *Cast-Tape Drying*

Foi realizado conforme descrito no item 4.3.4.1, usando as temperaturas de secagem de 50 °C e 70 °C.

4.4.1.2 *Liofilização*

As amostras foram colocadas em bandejas, com espessura de 3 milímetros, e previamente congeladas à temperatura de -18 °C. A liofilização foi realizada em liofilizador de bancada (Liobrás, Liotop L101, Brasil) à pressão de 433 µHg.

4.4.1.3 *Cast-Tape Drying sob vácuo (V-CTD)*

O dispositivo de V-CTD (Costa, 2017) consiste em uma placa metálica (80 cm x 40 cm) aquecida por circulação de água quente no seu interior (Moraes et al., 2013). A água quente é proveniente de um banho ultratermostático (Callmex, modelo - 6214M2, Brasil). Um filme teflonado (26 cm x 26 cm, 0,25 mm de espessura), de grau alimentício (Lençol Armalon® Standard, Indaco, São Paulo, Brasil), foi fixado na parte superior da placa, e utilizado como suporte para o espalhamento do leite fermentado. Após o espalhamento, uma câmara de vácuo de aço inox (280 mm x 280 mm x 80 mm) com tampa de acrílico foi acoplada a uma bomba de vácuo, com vazão nominal de $10,2 \text{ m}^3\text{h}^{-1}$ (D.V.P, Vacuum Technology, Modelo - RC.8D, Itália). O controle da pressão foi realizado com o auxílio de um transdutor de pressão (ILMVAC, modelo – 600071 Grobvakuummeter, Alemanha). A pressão na câmara de vácuo foi controlada até atingir 35 kPa. Foi utilizada água a $70 \text{ }^\circ\text{C}$ ($\pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$) para aquecimento. As amostras foram mantidas sob aquecimento e sob vácuo até o final da secagem. O tempo final do processo de secagem foi determinado quando as amostras atingiram valores de a_w próximos de 0,4.

Os experimentos foram realizados em triplicata.

4.4.1.4 *Moagem e classificação do pó*

Todos os filmes/flocos obtidos após a secagem por CTD, liofilização e V-CTD foram moídos em moinho de facas (TECNAL, TE 631/2, São Paulo, Brasil), usando-se 2 pulsos de 10 segundos. O pó obtido foi peneirado em peneiras de 25 *mesh*.

4.4.1.5 *Estabilidade dos pós de leite fermentado armazenados em diferentes UR (%)*

A estabilidade dos pós de leite fermentado foram avaliadas conforme descrito por Romano et al. (2018). Os pós de leite fermentado foram acondicionados em câmaras com diferentes UR (26%, 48% e 67%) utilizando temperatura controlada de $20 \text{ }^\circ\text{C}$. A contagem microbiana, umidade, a_w e cor do material foram avaliadas por 180

dias ou até perda da viabilidade abaixo do recomendado para produtos probióticos (10^6).

4.4.1.5.1 Análises microbiológicas

A contagem dos microrganismos foi realizada usando diluição em série em água peptonada (0,1% p/v). O microrganismo *L. fermentum* foi plaqueado em profundidade com dupla camada de ágar MRS, e as placas incubadas invertidas a 37 °C, durante 48 h (MARTIN et al., 2013).

4.4.1.5.2 Umidade e a_w

Foi realizado como descrito no item 4.3.2.1.

4.4.1.5.3 Cor

A análise de cor foi realizada com o auxílio de um sistema de visão computacional, de acordo com a metodologia descrita por Cárdenas-Pérez et al. (2017), com adaptações. Para a captura das imagens, foi utilizada uma câmera Nikon (Nikon D5500, Nikon Corporation, Tóquio, Japão) e para análise, o *software* ImageJ v. 1.6.0 (National Institutes of Health, Bethesda, MD, EUA). A conversão de cores do sistema RGB para a escala CIELab foi realizada utilizando o *plug-in* Color Space Converter, resultando em valores de luminosidade L^* ($L^* = 0$: preto; $L^* = 100$: branco), e cromaticidades a^* ($+a^*$: vermelho; $-a^*$: verde) e b^* ($+b^*$ amarelo; $-b^*$: azul). As amostras foram analisadas em quadruplicata.

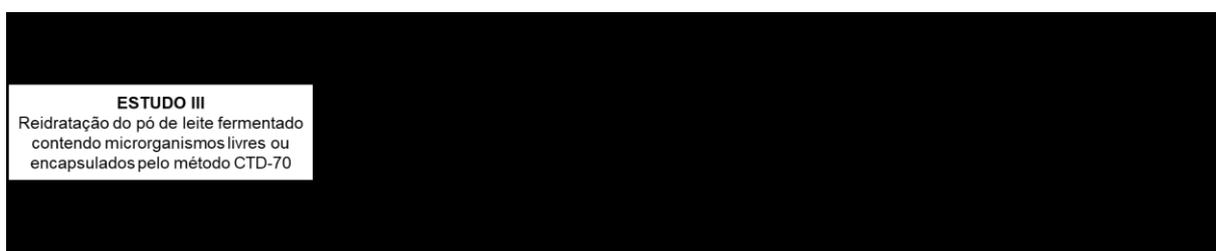
A diferença de cor (ΔE) entre as amostras obtidas e a amostra inicial foi calculada de acordo com a Equação 11.

$$\Delta E = \sqrt{(L_0^* - L^*)^2 + (a_0^* - a^*)^2 + (b_0^* - b^*)^2} \quad [11]$$

4.5 ESTUDO III - REIDRATAÇÃO DO PÓ DE LEITE FERMENTADO CONTENDO MICRORGANISMOS LIVRES OU ENCAPSULADOS OBTIDOS PELO MÉTODO CTD-70

Na Figura 15 está apresentado o esquema organizacional do Estudo III.

Figura 15 – Esquema organizacional do Estudo III: Reidratação do pó de leite fermentado contendo *L. fermentum* livres ou encapsulados pelo método CTD-70.



CTD 70- *Cast tape drying* na temperatura de 70 °C de secagem; a_w - atividade de água; DRX- Difração de raios X; DSC- Calorimetria diferencial de varredura.

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

4.5.1 Reconstituição do pó

O processo de reidratação ocorreu com adição de água destilada (20 °C) em um béquer de vidro de 250 mL, utilizando um agitador mecânico (Agitador IKA RW20 digital, Alemanha). Para isso, adicionou-se água destilada às amostras de pó para que as mesmas atingissem a concentração de sólidos solúveis (°Brix) do leite fermentado.

4.5.2 Caracterização do leite fermentado inicial, dos pós e suspensões reconstituídas

As análises realizadas nas amostras do leite fermentado inicial (líquido) dos pós e das suspensões reconstituídas seguiram as metodologias segundo o item a seguir: umidade e a_w item 4.3.2.1, SST item 4.3.3.1.1, pH item 4.3.3.1.2, acidez item 4.4.1.5.3, microbiologia item 4.4.1.5.1 e cor item 4.4.1.5.3.

4.5.2.1 Densidade aparente, massa específica real e porosidade

O volume aparente dos pós (v_{ap}) foi determinado pesando 5 g de pó, que foi colocado em uma proveta graduada (10 mL). A amostra foi compactada realizando batidas repetidas com o tubo em uma superfície plana até uma altura constante do leito de partículas. A densidade aparente (ρ_{ap}) do leito de partículas foi calculada pela razão de massa (m_p) e o volume aparente de pó (v_{ap}).

A densidade real dos pós de leite fermentado foi realizada no Laboratório de Termodinâmica e Extração Supercrítica (LATESC – EQA/UFSC) utilizando um picnômetro a gás Hélio (Micromeritics, AccuPyc II 1340, EUA). Para a realização da análise, a amostra foi colocada em uma cápsula ocupando $\frac{3}{4}$ de seu volume e posteriormente foi pesada. O princípio do analisador de densidade utilizado é o deslocamento de gás hélio (99,995% pureza) para o interior da amostra, medindo-se o volume transferido e o volume real das partículas. Da massa da amostra e do seu volume real, calcula-se a densidade real das partículas.

Conhecendo a densidade aparente do conjunto de partículas em um leito empacotado e a densidade real dessas partículas, calcula-se a porosidade do leito de partículas (ε) pela Equação 12 (BARBOSA-CÁNOVAS et al., 2005).

$$\varepsilon = \frac{\rho_r - \rho_{ap}}{\rho_r} \quad [12]$$

em que ρ_r é a densidade real das partículas ($\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$).

4.5.2.2 Distribuição de tamanho das partículas

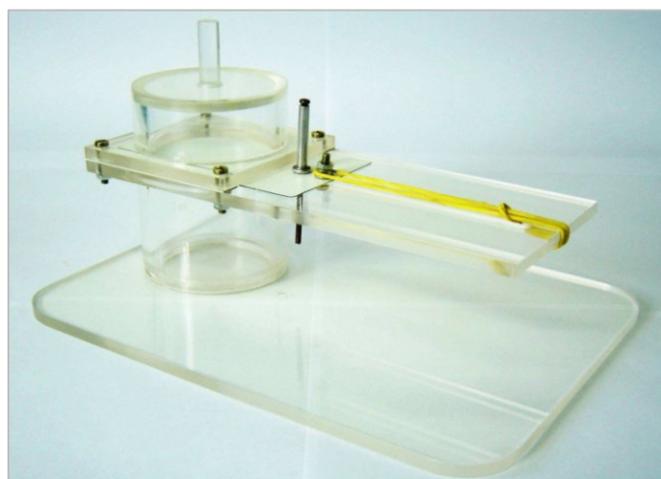
A distribuição de tamanho das partículas foi realizada no Laboratório Interdisciplinar para o Desenvolvimento de Nanoestruturas (LINDEN - UFSC). Para a realização da análise, as amostras de pó e cápsulas foram dispersas em tween 80 na concentração de 1 mg mL^{-1} , em seguida foram deixadas em ultrassom durante 15 min. A análise foi realizada por método de sedimentação líquida, com a utilização de uma centrífuga analítica (LUMiSizer® LS611 GmbH, Alemanha) de acordo com a ISO 13318-2. A técnica emprega o STEPTechnology™, que permite medir a intensidade

da luz transmitida em função do tempo e posição ao longo de todo o comprimento da amostra simultaneamente. Os valores de transmissão são convertidos, e a distribuição de velocidades como resultado primário é obtida por meio do software SEPView. Com base na distribuição de velocidades, o software permite calcular a distribuição de tamanho das partículas.

4.5.2.3 *Tempo de dispersão*

O tempo de dispersão dos pós foi determinado no aparato experimental adaptado por Dacanal (2005), apresentado na Figura 16. Consiste em um recipiente com 80 mL de água destilada a 25 °C, com uma placa deslizante na parte superior. Aproximadamente 1 g de amostra de pó foi colocada sobre a placa, que desliza rapidamente pela retirada de um elástico, vertendo o pó no reservatório de água. O tempo de dispersão, medido com um cronômetro, é associado à imersão completa da camada de partículas na água.

Figura 16 – Aparato experimental utilizado para determinar o tempo de dispersão dos pós de leite fermentado em água.



Fonte: Dacanal (2005).

4.5.2.4 Solubilidade (SOL)

A SOL das amostras foi determinada pela adição de 1 g de pó em 100 mL de água destilada em temperatura ambiente (DACANAL; MENEGALLI, 2009). A análise consiste na determinação da porcentagem de material não solubilizado na água. As amostras foram agitadas durante 1 minuto e posteriormente filtradas a vácuo. O material retido no filtro de papel foi seco em estufa a 105 °C (TECNAL, Modelo TE-394/2, Brasil) por 24 horas. A solubilidade foi calculada a partir da Equação 13.

$$SOL = 100 - \left| \frac{m_1}{m_0(1-X_{bu})} \cdot 1 \right| \quad [13]$$

na qual m_1 é a massa inicial da amostra (g), m_0 é a massa de amostra remanescente no filtro (g) e X_{bu} é a umidade inicial da amostra analisada em base úmida (g H₂O.100 g⁻¹ solução).

4.5.2.5 Comportamento reológico

Os comportamentos reológicos do leite fermentado e dos pós reconstituídos foram determinados no Laboratório de Controle e Processos de Polimerização (LCP - UFSC), utilizando um reômetro de placas paralelas (Haake Mars, D – 76227, Alemanha), com 25 mm de diâmetro. As curvas de tensão x deformação (taxa de cisalhamento) foram obtidas para taxas de cisalhamento de 9 s⁻¹ a 600 s⁻¹, durante 240 s. A temperatura da amostra foi mantida 20 °C. O modelo de Ostwald ou Lei da Potência (Equação 14) foi ajustado aos dados experimentais de tensão x deformação.

$$\sigma = K \cdot \gamma^\eta \quad [14]$$

na qual σ é a tensão de cisalhamento (Pa), K é o índice de consistência (Pa. s⁻¹), γ é a taxa de cisalhamento (s⁻¹) e η é o índice de comportamento do escoamento (adimensional). Para fluidos newtonianos, $\eta = 1$, para fluidos pseudoplásticos, $\eta < 1$, enquanto para fluidos dilatantes, $\eta > 1$ (RAO, 2007).

Para fluidos com comportamento reológico descrito pelo modelo de Ostwald, a viscosidade aparente (η_{ap}) é definida pela Equação 15.

$$\eta_{ap} = K \cdot \dot{\gamma} \cdot \eta^{-1} \quad [15]$$

4.5.2.6 Difratometria de raios-X (DRX)

Foi realizada a análise de DRX para o pó de leite fermentado probiótico, seguindo o item 4.3.2.4.

4.5.2.7 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

As propriedades térmicas das amostras contendo o microrganismo probiótico foram avaliadas na Central de Análise do Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina (EQA/UFSC) pela técnica de calorimetria diferencial de varredura em calorímetro da marca Perkin-Elmer, Jade (Massachusetts, USA), previamente calibrado com Índio e Zinco, utilizando-se gás de arraste o nitrogênio (N₂) e vazão de 20 mL·min⁻¹. Uma massa de 5,0 mg de micropartículas foi colocada em cadinhos de alumínio hermeticamente selados. A taxa de aquecimento foi 10 °C min⁻¹ na faixa de temperatura de 30 °C a 400 °C, sob atmosfera de nitrogênio em fluxo de 50 mL min⁻¹, como descrito por Azevedo et al. (2018).

4.5.2.8 Isotermas de sorção de umidade

As isotermas de sorção de umidade dos pós foram determinadas pelo método gravimétrico-estático, em dessecadores. Os pós foram desidratados em um liofilizador (Liotop L101, Liobrás, São Carlos, Brasil) por 48 horas. Em seguida, aproximadamente 2,0 g de pó foram pesados em balança analítica (Shimadzu, modelo ATX224, Tóquio, Japão) e colocados em recipientes hermeticamente fechados contendo nove diferentes soluções salinas saturadas (Tabela 1). Estes recipientes foram colocados em estufa do tipo B.O.D., à temperatura de 25 °C. Quando a

diferença entre duas pesagens das amostras foi inferior a 1 mg g^{-1} , foi considerado que elas estavam em equilíbrio com a atmosfera circundante no interior do dessecador. O teor de umidade das amostras foi determinado como descrito no item 4.3.2.1.

O modelo de GAB (Guggenheim-Anderson-de Boer), Equação 16, foi ajustado aos dados experimentais para descrever o comportamento das isotermas.

$$X_{eq} = \frac{X_m \cdot C \cdot k \cdot a_w}{(1 - k \cdot a_w) \cdot (1 - k \cdot a_w + C \cdot k \cdot a_w)} \quad [16]$$

na qual, X_{eq} é a umidade de equilíbrio ($\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ b.s.), a_w é a atividade de água referente à umidade relativa de referência na qual a amostra foi condicionada, X_m é a umidade da monocamada ($\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ b.s.), C é a constante de Guggenheim relacionada à energia de interação das moléculas na monocamada, enquanto k é a constante de GAB relacionada à energia de interação das moléculas adsorvidas na multicamada.

Os parâmetros foram estimados utilizando o *software* OriginPro 8.5®. Para avaliar a adequação do modelo aos dados experimentais, utilizou-se o coeficiente de correlação (R^2) e a raiz do erro médio quadrático (RMSE).

Tabela 1 – Atividade de água de soluções salinas saturadas a $25\text{ }^\circ\text{C}$

Soluções salinas saturadas	Atividade de água (a_w)
Cloreto de lítio	0,115
Acetato de potássio	0,228
Cloreto de magnésio	0,332
Carbonato de potássio	0,440
Nitrato de magnésio	0,537
Nitrito de sódio	0,652
Cloreto de sódio	0,759
Cloreto de potássio	0,846
Cloreto de bário	0,901

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram tratados estatisticamente utilizando o *software* Statistica 12.0 (StatSoft, Tulsa, Estados Unidos), por meio de análise de variância (ANOVA). A comparação múltipla das médias foi realizada pelo teste de Tukey, com nível de confiança de 95%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 ESTUDO I – SECAGEM DE LEITE FERMENTADO POR CAST-TAPE DRYING: INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DO ENCAPSULAMENTO DO *L. FERMENTUM* NA VIABILIDADE CELULAR APÓS O PROCESSAMENTO.

5.1.1 Caracterização das microcápsulas

5.1.1.1 Eficiência de Encapsulação (EE)

A microencapsulação de alginato de sódio e o amido contendo *L. fermentum* apresentaram eficiência de $90 \pm 1\%$. Outros estudos que também utilizaram alginato de sódio e amido mostraram eficiência de 97% para *L. fermentum* (MARTIN et al., 2013), resultado similar ao obtido neste trabalho, e 50% para *Bifidobacterium bifidum* (ZOU et al., 2011), resultado inferior ao obtido neste trabalho. Essa diferença pode estar relacionada com as diferentes propriedades dos probióticos e manipulações, mesmo usando a mesma técnica de microencapsulação (MARTIN et al., 2013).

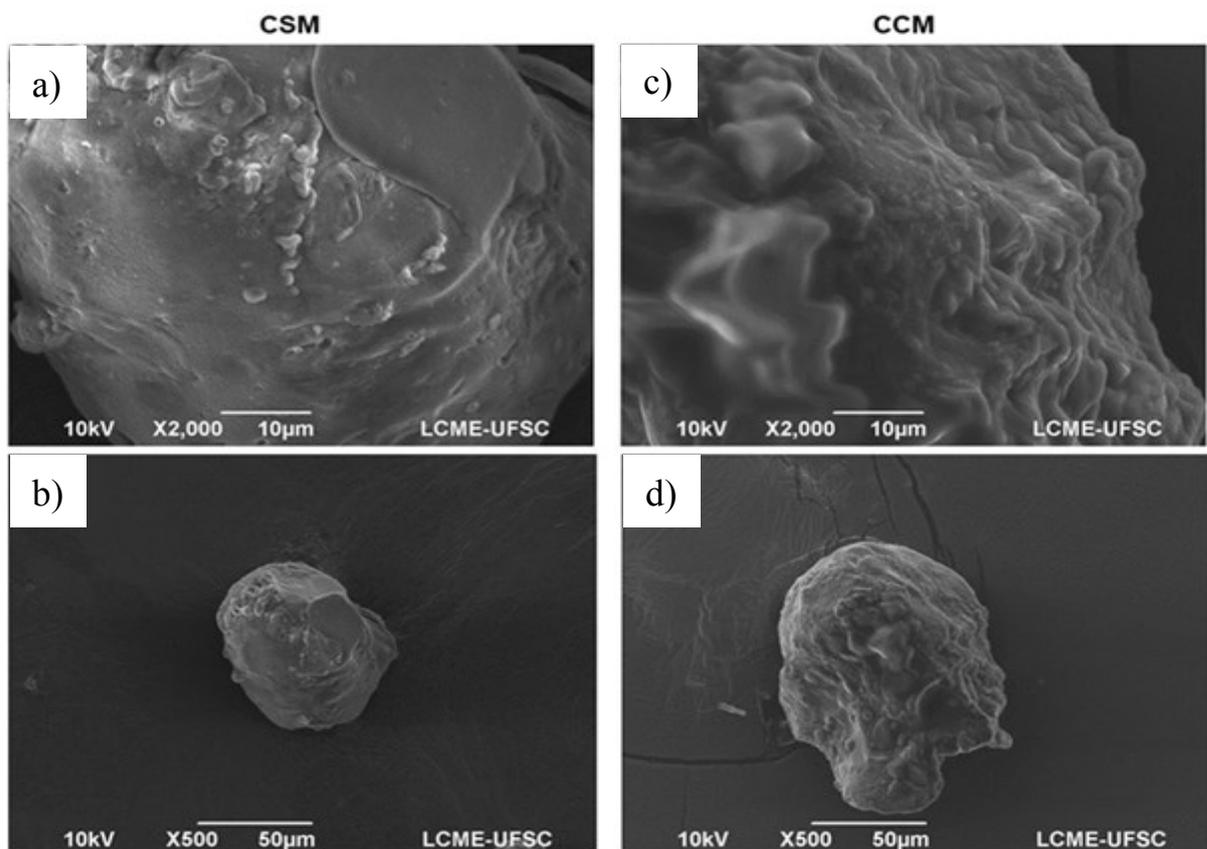
5.1.1.2 Determinação da umidade e Atividade de água (a_w)

As microcápsulas apresentaram umidade de $91,31\% \pm 0,24$ e a_w de $0,992 \pm 0,00$, valores que mostram a necessidade de aplicação de alguma técnica que possa manter a viabilidade dos microrganismos durante armazenamento prolongado (MARTINS et al., 2013).

5.1.1.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Na Figura 17 apresentam-se micrografias das cápsulas sem microrganismos (CSM) e com microrganismos (CCM), com aumento de 2000 vezes e 500 vezes.

Figura 17 – Microscopias eletrônicas de varredura (MEV) de cápsulas sem microrganismo (CSM) e cápsulas com microrganismo (CCM). a) CSM com aumento de 2000x; b) CSM com aumento de 500x; c) CCM com aumento de 2000x; d) CCM com aumento de 500x.



Fonte: LCME - UFSC (2020)

Ambas, CSM e CCM, possuem formato esférico, sem a presença de poros. As CCM apresentaram a estrutura mais rugosa que as CSM. De acordo com Martin et al. (2013), essas estruturas mais rugosas são ocasionadas pela presença das bactérias probióticas fixadas à superfície da cápsula e cobertas por uma fina camada

de material polimérico. Segundo os mesmos autores, a adição de amido para formação de cápsulas de alginato de sódio resulta em estruturas com menor porosidade, ocasionando maior proteção das bactérias encapsuladas, que as mantém viáveis durante a passagem pelo trato gastrointestinal (ALLAN-WOJTAS et al., 2008; MARTIN et al., 2013).

5.1.2 Cinéticas de secagem de leite fermentado probiótico produzido por Cast-Tape Drying

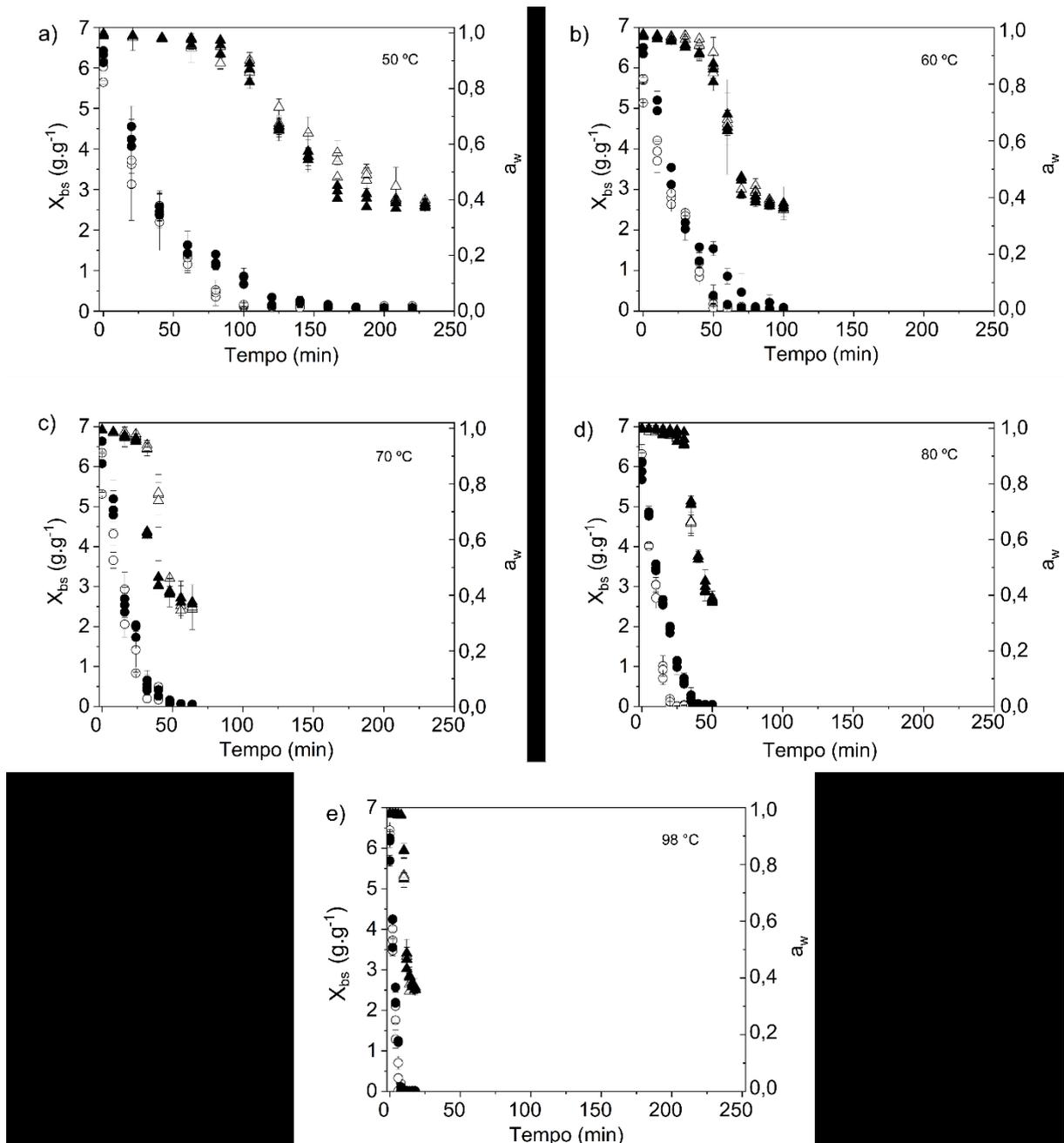
5.1.2.1 Cinética de umidade e atividade de água (a_w)

As curvas de umidade e de a_w de leite fermentado com adição de microrganismos livres (LFL) ou encapsulados (LFE), secos em CTD, com espessura de espalhamento de 2 mm, com água quente a 50 °C, 60 °C, 70 °C, 80 °C e 98 °C, são apresentadas na Figura 18.

A elevação da temperatura de 50 °C para 98 °C resultou na redução do tempo de secagem de 220 min para 18 min. O final da secagem foi assumido quando as amostras atingiram atividade de água próximas a 0,38 (Tabela 2). Os tempos de secagem para os leites fermentados com adição de microrganismos livres ou encapsulados foram similares, para temperaturas de processamento iguais. Costa (2017) estudou a secagem de iogurte por liofilização e *Cast-Tape Drying* a vácuo, para a produção de iogurte em pó, e relatou valores de a_w finais de 0,3 e 0,5, respectivamente. Nessa faixa de a_w , os produtos são microbiologicamente estáveis (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010) e podem, em tese, manterem a viabilidade celular durante o armazenamento.

Pode-se observar que no início da secagem (Figura 18) a a_w é constante, e há um decaimento linear da umidade (evaporação da água taxa constante). Próximo à metade do tempo de secagem ocorre um decaimento da a_w , até chegar ao equilíbrio. Quando o alimento é submetido ao processo de secagem, ocorre a redução da umidade e conseqüentemente da a_w , indicando que a água fracamente ligada ao produto é evaporada primeiro, enquanto a água fortemente ligada ao produto é evaporada por último.

Figura 18 – Evolução temporal da umidade (círculo), em base seca, e atividade de água (triângulo), do leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico livre (símbolo aberto) e leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico encapsulado (símbolo fechado) durante a secagem em CTD nas temperaturas: a) 50 °C; b) 60 °C; c) 70 °C; d) 80 °C; e) 98 °C. Análises realizadas em triplicata.



As barras verticais representam o desvio padrão.

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

Embora a redução da atividade de água seja uma maneira eficiente de preservar os alimentos, deve-se evitar reduzi-la a valores abaixo de 0,3, pois nessa a_w não há crescimento microbiano e o alimento tem suas reações minimizadas. Para atividades de água menores, pode-se causar uma descontinuidade da monocamada adsorvida, que levará a um aumento significativo da velocidade de oxidação lipídica. Deste modo, valores de a_w menores do que 0,5 e maiores do que 0,3 estão em uma faixa favorável à conservação da maioria dos alimentos (FENNEMA, DAMODARAM, PARKIN, 2010; DITCHFIELD, 2000).

Tabela 2 – Atividade de água, teor de umidade em base seca e tempo de secagem do leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico livre (LFL) e leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico encapsulado (LFE) em CTD nas temperaturas de água de aquecimento de 50 °C, 60 °C, 70 °C, 80 °C e 98 °C.

LEITE FERMENTADO					
T (°C)	Tempo (min)	Livre		Encapsulado	
		a_w	Umidade (g.g ⁻¹)	a_w	Umidade (g.g ⁻¹)
50	220	0,384 ^{aA} ± 0,1	0,08 ^{aA} ± 0	0,385 ^{aA} ± 0	0,09 ^{aA} ± 0
60	100	0,367 ^{aA} ± 0	0,08 ^{aA} ± 0	0,378 ^{aA} ± 0	0,07 ^{aB} ± 0
70	64	0,366 ^{aA} ± 0	0,06 ^{aB} ± 0	0,373 ^{aA} ± 0	0,04 ^{aBC} ± 0
80	50	0,380 ^{aA} ± 0	0,04 ^{aB} ± 0	0,382 ^{aA} ± 0	0,05 ^{aCD} ± 0
98	14	0,373 ^{aA} ± 0	0,02 ^{aC} ± 0	0,368 ^{aA} ± 0	0,02 ^{aD} ± 0

Letras minúsculas diferentes nas linhas indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) para mesma temperatura. Letras maiúsculas diferentes nas colunas indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) entre as temperaturas e mesmo processo de encapsulamento.

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

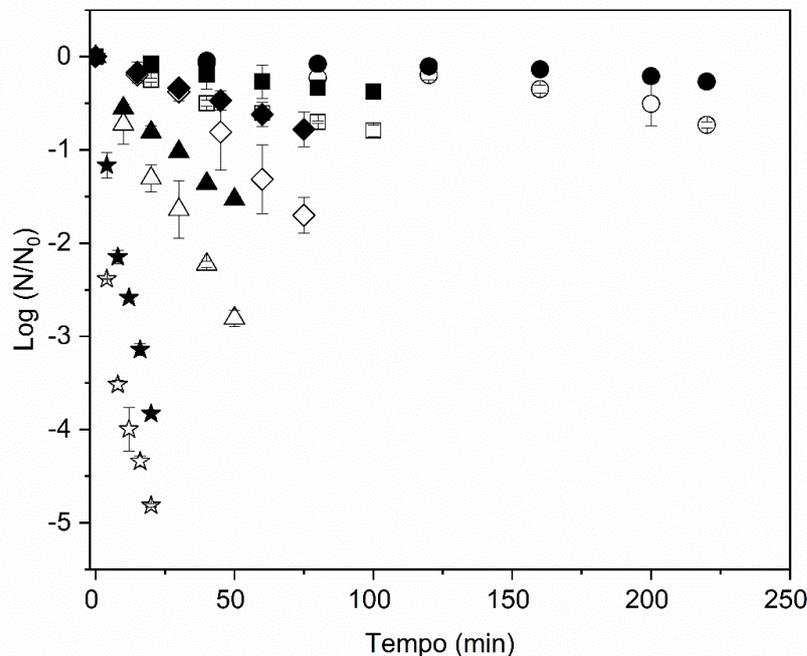
Os valores de umidade final variaram de 0,02 a 0,09 g.g⁻¹ de sólidos secos, não diferindo estatisticamente entre eles na mesma faixa de temperatura (Tabela 2). Resultados semelhantes de umidade também foram encontrados para iogurte seco por RW em temperaturas de 50 °C, 60 °C e 70 °C, variou entre 0,06 e 0,07 g.g⁻¹ (b.s)

(TONTUL et al., 2018) e $0,13 \text{ g.g}^{-1}$ iogurte seco em V-CTD na temperatura de $40 \text{ }^\circ\text{C}$ (COSTA, 2017).

5.1.2.2 Cinética e modelagem de inativação de *L. fermentum* em leite fermentado durante a secagem

Na Figura 19, são apresentadas as médias dos dados da evolução temporal das contagens de *L. fermentum* durante a secagem em CTD a diferentes temperaturas. Na Tabela 3 são apresentados os valores médios do tempo de redução decimal (D) em cada temperatura, obtido a partir do modelo log-linear.

Figura 19 – Curva de inativação térmica do *L. fermentum* vs. tempo de secagem de leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico livre (LFL) e leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico encapsulado (LFE), nas temperaturas da água (secagem): $50 \text{ }^\circ\text{C}$, $60 \text{ }^\circ\text{C}$, $70 \text{ }^\circ\text{C}$, $80 \text{ }^\circ\text{C}$ e $98 \text{ }^\circ\text{C}$, realizadas em triplicata. $\text{Log}(N/N_0)$ é medido em UFC/mL.



LFL - leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico livre (símbolos abertos); LFE - leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico encapsulado (símbolos fechados). Temperatura de secagem: $50 \text{ }^\circ\text{C}$; (círculo); $60 \text{ }^\circ\text{C}$ (quadrado); $70 \text{ }^\circ\text{C}$ (losango); $80 \text{ }^\circ\text{C}$ (Triângulo) e $98 \text{ }^\circ\text{C}$ (estrela). As barras verticais representam o desvio padrão

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Tabela 3 – Médias (triplicatas) do coeficiente de determinação e tempo de redução decimal para o leite fermentado com adição de microrganismo livre (LFL) e encapsulado (LFE) em cada temperatura de secagem em CTD.

T (C°)	Microorganismo	D (min)	R ²
50	FFM	370,4	0,885
	EFM	1000,0	0,946
60	FFM	111,1	0,910
	EFM	243,9	0,976
70	FFM	48,1	0,949
	EFM	95,2	0,998
80	FFM	8,8	0,988
	EFM	15,0	0,943
98	FFM	3,5	0,727
	EFM	4,9	0,949

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

Inicialmente (tempo 0), foi observada uma contagem média do microrganismo *L. fermentum* (livres ou encapsulados) no leite fermentado de $2,3 \times 10^9$ UFC/g, acima da concentração mínima recomendada, considerando uma ingestão de 100 g de produto. Recomenda-se que o consumo diário mínimo de microrganismos probióticos seja de 100 g de produto contendo 10^6 a 10^7 UFC/g (TERPOU et al., 2017).

Os resultados mostraram que nas temperaturas de 50 °C e 60 °C, com tempo de secagem de 220 min e 100 min, respectivamente, as reduções das bactérias foram menores que 1 log ao final da secagem, independente se o microrganismo estava na forma livre ou encapsulada. Durante o processo de secagem em temperaturas mais amenas, o aumento da temperatura na matriz de encapsulamento pode ser mais lento, permitindo a adaptação do microrganismo, com menos danos às células (ARAGON-ROJAS et al., 2019). Na temperatura de secagem de 70 °C por 64 min houve redução de aproximadamente 1 log de *L. fermentum* para a amostra LFE e redução de aproximadamente 2 logs para a amostra de LFL. O LFL na temperatura de 80 °C teve uma redução de aproximadamente 3 logs e o LFE teve redução de menos de 2 logs.

Nesse caso, seria necessário o consumo de maior quantidade de leite fermentado em pó para satisfazer a quantidade mínima necessária diariamente.

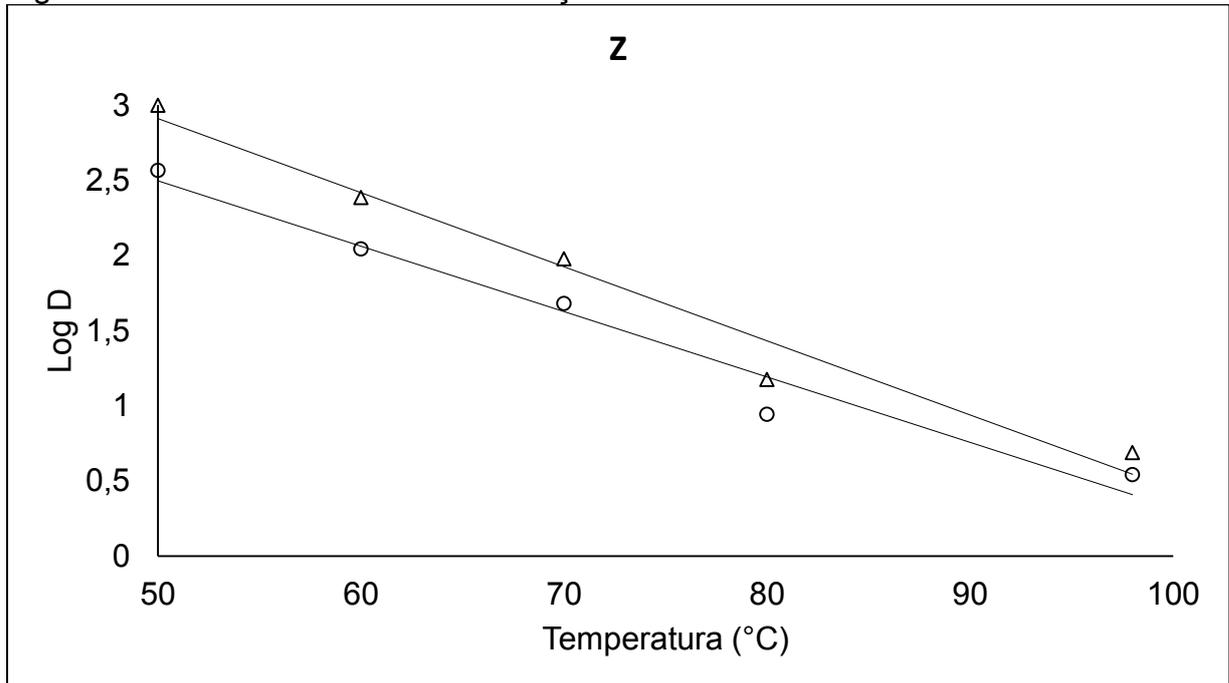
Os leites fermentados foram secados em apenas 14 min a 98 °C, mas apresentaram redução de aproximadamente 4 logs para os microrganismos encapsulados e de aproximadamente 5 logs para os microrganismos livres. A transferência de calor por condução aumentou bastante a temperatura na amostra, causando estresse térmico e morte celular (ARAGÓN-ROJAS et al., 2019), o que pode ter contribuído com a alta viabilidade celular durante a secagem.

Os resultados mostram que a adição do microrganismo na forma encapsulada favoreceu a sua sobrevivência dentro da faixa de temperatura de 50 a 98 °C, quando comparada com o microrganismo adicionado na forma livre. Como demonstrado em outros trabalhos, a presença de carboidratos na matriz (amido, no presente estudo) aumenta a estabilidade dos microrganismos, devido à sua capacidade de criar estruturas amorfas que inibem ou retardam os processos que causam stress microbiano (ROMANO et al., 2018).

Tontul et al. (2018) produziram pó de iogurte seco por RW, com resultados que mostraram que os pós secos em temperaturas de 60 °C e 70 °C apresentaram redução da viabilidade devido à degradação térmica dos microrganismos durante o armazenamento. Apenas o pó de iogurte desidratado a 50 °C apresentou viabilidade dentro dos padrões para produtos probióticos.

A predição da inativação de *L. fermentum* foi determinada pela cinética de primeira ordem log-linear, Figura 19. Para a temperatura de secagem de 50 °C, o valor de D foi de 370,4 min e 1 mil min para redução de 1 log para o LFL e LFE, respectivamente. Neste caso, as amostras LFE levaram tempo de 2,7 vezes mais tempo para serem inativadas que as amostras LFL, mostrando novamente que as cápsulas protegem os microrganismos durante a secagem. Porém, na temperatura de 98 °C a diferença de tempo de inativação entre o LFE e o LFL foi de apenas 1,4 vezes, menos de 100 segundos. Nesta temperatura de secagem, as cápsulas perdem um pouco de eficiência na proteção dos microrganismos, devido à temperatura bem acima da suportada pelo *L. fermentum*, não havendo um período de adaptação dos microrganismos.

Figura 20 – Curva fantasma da destruição térmica de *L. fermentum*.



Círculo: Leite fermentado com microrganismo livre, triângulo: Leite fermentado com microrganismo encapsulado

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

Foi observado que para o LFE é necessário o dobro do tempo para redução de um ciclo logarítmico, quando comparado ao LFL, nas diferentes temperaturas de secagem.

É possível observar que as secagens na temperatura de 70 °C e 80 °C são condições favoráveis para a secagem, apesar de resultarem em pós com maior perda de viabilidade do probiótico. A redução significativa no tempo de secagem, quando comparado com as temperaturas mais baixas, pode ser uma vantagem, mas isso deve ser analisado em função dos custos de secagem e da dimensão do equipamento, nos dois casos.

O valor z é obtido pela curva de log-D em função da temperatura, como mostrado na Figura 20. O valor encontrado foi de 20,3 °C ($R^2 = 0,971$) e 23,0 °C ($R^2 = 0,967$) para LFL e LFE, respectivamente. Ou seja, para LFL é necessário haver uma variação de 20,3 °C para que ocorra variação de 10 vezes na velocidade de morte do microrganismo. Novamente, nota-se que o encapsulamento protegeu as células microbianas durante a secagem.

Com estes resultados, fica evidenciado que a secagem por CTD é uma tecnologicamente viável para obter produtos probióticos desidratados, mas a temperatura de secagem deve ser otimizada para cada matriz e microrganismo.

5.1.2.3 Cor

A cor é o principal atributo associado à qualidade dos alimentos e a mudança nos seus parâmetros é importante, pois influenciam os consumidores em sua aceitação (AHMED; RAMASWAMY, 2005). Por outro lado, a velocidade de uma reação química é influenciada pela concentração dos reagentes envolvidos e pela temperatura do processo (FOGLER, 2009).

Na Tabela 4, são apresentados os parâmetros da escala de cor CIELab (L^* , a^* , b^* e ΔE) das amostras de leite fermentado probiótico obtidos nas diferentes temperaturas de secagem em CTD.

Tabela 4 – Parâmetros de cor das amostras de leite fermentado probiótico e pós obtidos por CTD, em diferentes temperaturas de secagem.

T (C°)	Amostra	Parâmetros			
		L^*	a^*	b^*	ΔE^*
50	LFL	92,27 ^a ± 0,68	-0,78 ^a ± 0,03	1,22 ^{bc} ±0,04	6,43 ^b ± 0,51
	LFE	91,61 ^{ab} ± 0,78	-0,67 ^g ± 0,23	1,18 ^{fg} ±0,07	6,12 ^b ± 0,33
60	LFL	91,58 ^{ab} ± 0,05	-0,82 ^a ± 0,02	1,22 ^{bcd} ± 0,04	7,01 ^b ± 0,58
	LFE	91,76 ^{ab} ± 0,02	-0,65 ^b ± 0,04	1,18 ^{fg} ± 0,07	6,31 ^b ± 0,08
70	LFL	92,54 ^a ±0,32	-0,37 ^c ± 0,00	1,26 ^{fg} ± 0,25	6,21 ^b ± 0,27
	LFE	92,23 ^a ±0,36	-0,25 ^{bc} ± 0,07	1,44 ^{efg} ± 0,08	6,12 ^b ± 0,39
80	LFL	90,27 ^{cd} ± 0,08	-0,45 ^f ± 0,09	2,81 ^b ± 0,20	8,94 ^b ± 0,40
	LFE	90,88 ^{bc} ± 0,17	-0,82 ^a ± 0,02	2,82 ^b ± 0,20	7,98 ^b ± 0,22
98	LFL	90,27 ^{cd} ± 0,05	-1,94 ^e ± 0,03	13,87 ^a ± 1,02	17,60 ^a ± 0,56
	LFE	89,31 ^d ± 0,29	-3,78 ^d ± 0,07	14,17 ^a ± 0,39	18,40 ^a ± 0,49

LFL - leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico livres; LFE - leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico encapsulados.

Letras diferentes nas mesmas colunas representam diferenças significativas entre as amostras pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

Em relação ao parâmetro L^* , não houve diferença significativa dos pós obtidos nas temperaturas 50 °C, 60 °C e 70 °C, indicando que o pó obtido em temperaturas mais baixas apresenta maior luminosidade (maior tendência ao branco) do que o pó produzido em temperaturas mais altas. Este resultado pode ser atribuído ao fato de que temperaturas mais elevadas contribuem para as reações de escurecimento não enzimático, como a reação de Maillard.

O parâmetro b^* também aumentou seu valor em temperaturas mais elevadas de secagem, resultando em pós com coloração amarelada.

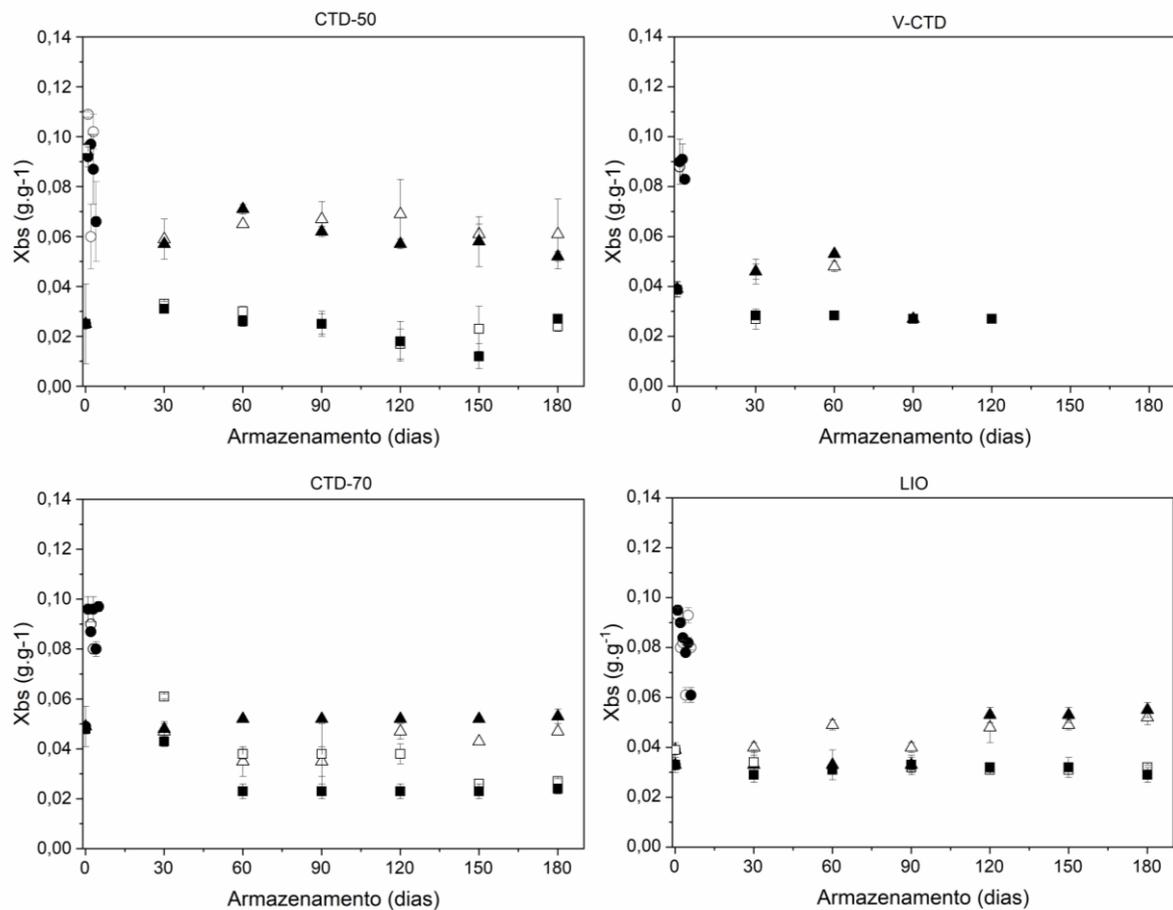
Assim, para o estudo seguinte de armazenamento serão usados os pós obtidos em CTD na temperatura de secagem de 50 °C e a temperatura máxima de 70 °C, que manteve viabilidade durante a secagem.

5.2 ESTUDO II – VIABILIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE FERMENTADO CONTENDO *L. FERMENTUM*, LIVRES OU ENCAPSULADOS, POR DIFERENTES MÉTODOS DE SECAGEM E ARMAZENADOS EM UR DE 26%, 48% E 67%

5.2.1 Estabilidade microbiológica do leite fermentado em pó armazenado em diferentes UR (%)

Durante o armazenamento a 20 °C a umidade e a_w foram determinadas para verificar o equilíbrio das amostras. As amostras foram acondicionadas em cubas com UR de 26%, 48% e 67%, porém as amostras obtiveram a estabilidade em UR de 26%, 48% e 67%. Na Figura 21 e Figura 22 estão apresentados o comportamento da umidade e atividade de água, respectivamente. Os pós foram analisados por 180 dias, ou até que a viabilidade do microrganismo ficasse abaixo do recomendado pela literatura para produtos probióticos (abaixo de 10^6 UFC/g).

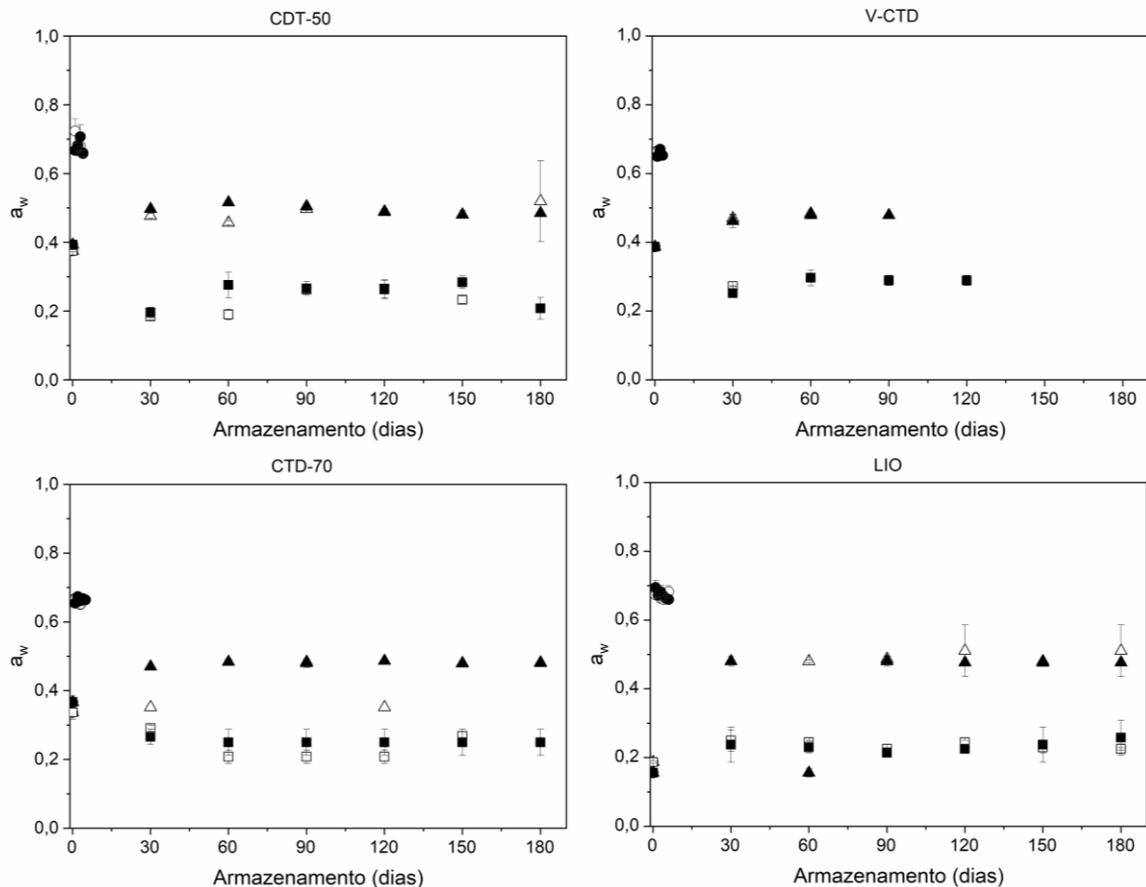
Figura 21 – Umidade do leite fermentado probiótico em pó, obtidos por diferentes métodos de secagem, armazenados a 20 °C e diferentes UR.



*Processos de secagem- CTD-50: *Cast tape drying* secos a 50 °C; CTD-70: *Cast tape drying* secos a 70 °C; V-CTD: *Cast tape drying* sob vácuo; LIO: Liofilização. LFL - leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico livres (símbolos abertos); LFE - leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico encapsulados (símbolos cheios). Umidade relativa de armazenamento - 26% (quadrado) e 48% (Triângulo). Traços na vertical: desvio padrão.

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Figura 22 – Atividade de água do leite fermentado probiótico em pó, obtidos por diferentes métodos de secagem, armazenados nas diferentes condições de armazenamento.



*Processos de secagem- CTD-50: *Cast tape drying* secos a 50 °C; CTD-70: *Cast tape drying* secos a 70 °C; V-CTD: *Cast tape drying* sob vácuo; LIO: Liofilização. LFL - leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico livres (símbolos abertos); LFE - leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico encapsulados (símbolos cheios). Umidade relativa de armazenamento - 26% (quadrado) e 48% (Triângulo). Traços na vertical: desvio padrão.

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Observa-se similaridade entre as análises de umidade e a_w do leite fermentado em pó com microrganismos livres e encapsulados, nas mesmas condições de armazenamento, independentemente do tipo de método de secagem. As amostras de leite fermentado probiótico em pó no início do armazenamento apresentaram umidade próxima a 0,08 g.g⁻¹ de sólidos secos, e a_w próxima a 0,380,

exceto os pós obtidos por liofilização, que no início do armazenamento apresentavam umidades próximas de $0,02 \text{ g.g}^{-1}$ (b.s) e a_w 0,189. Tontul et al. (2018) estudaram amostras de pó de iogurte liofilizado, e relataram umidade e a_w de $0,08 \text{ g.g}^{-1}$ (b.s) e 0,140, respectivamente, valores de a_w próxima ao obtido neste trabalho. Por outro lado, em relação aos valores de umidade, estes foram acima do encontrado neste trabalho. Estes valores estão de acordo com o recomendado para produtos secos, que devem ter teor de umidade menor que 5% (KUMAR; MISHRA, 2004).

Durante o armazenamento das amostras na umidade relativa de 48%, elas permaneceram com umidades próxima de $0,05 \text{ g.g}^{-1}$, em base seca, e a_w próximas de 0,480. Todos os pós armazenados em UR 26% permaneceram com umidades próxima de 0,03 e a_w próximas de 0,258. O LFL e LFE foram armazenados na mesma cuba, de acordo com suas umidades relativas, garantindo que o meio não interferisse nos resultados.

É desejável que o leite fermentado seco possua a_w na faixa de 0,2 a 0,5. Valores menores que 0,2 ocasionarão elevada velocidade de oxidação lipídica e valores maiores que 0,5 proporcionarão reações de escurecimento não enzimático e atividade enzimática (BAKER, 1997; COSTA, 2017). Além disso, dentro dessa faixa de a_w , não há condições para o crescimento de fungos, bactérias patogênicas e leveduras.

As amostras armazenadas em 67% de umidade relativa resultaram em umidade média de aproximadamente $0,08 \text{ g.g}^{-1}$ e a_w 0,672, o que favorece alterações na coloração e aglomeração do pó (SCHUCK et al., 2004), o que foi constatado durante o armazenamento, provavelmente associados à presença da lactose no estado amorfo (PERRONE et al., 2013). Um produto amorfo é enriquecido por moléculas de baixo grau de polimerização, que possuem mais grupos hidroxila disponíveis para ligar-se a água quando em comparação com amostras cristalinas, na qual a fração de baixo grau de polimerização foi removida (ROMANO et al., 2018).

Costa, 2017 obteve atividade de água para pós de leite fermentado tipo iogurte de 0,517 e 0,255 para V-CTD e liofilização, respectivamente.

No presente estudo, as amostras produzidas por liofilização tinham teores de umidade ligeiramente inferiores aos produzidos por CTD e V-CTD, assim uma menor atividade de água.

5.2.1.1 Viabilidade microbiológica

Na Tabela 5 são apresentadas as concentrações de *L. fermentum* em leite fermentado probiótico antes e após a secagem por diferentes processos. As amostras produzidas por CTD na temperatura de 50 °C permaneceram com contagem de 10^9 , enquanto as amostras produzidas pelos outros processos de secagem tiveram reduções na contagem de microrganismos viáveis. O leite fermentado adicionado de microrganismo livres mostrou maior perda de viabilidade microbiana, comparado com o leite fermentado adicionado de microrganismos encapsulados. Uma exceção foi observada para amostras liofilizadas, que tiveram viabilidade microbiana de 10^8 para LFL e LFE. Apesar da liofilização ser um dos métodos atualmente mais indicados para a secagem, segundo Martin et al. 2015 o congelamento pode causar danos as membranas celulares devido a formação de cristais de gelo e podem também resultar em condições de estresse as bactérias devido a alta osmolaridade.

Tabela 5 – Viabilidade de leite fermentado probiótico em pó, seco pelos diferentes métodos de secagem.

Processo de Secagem	MICROORGANISMO LIVRE		MICROORGANISMO ENCAPSULADO	
	Inicial (CFU/g)	Final (UFC/g)	Inicial (UFC/g)	Final (UFC/g)
CTD-50	$4,49 \times 10^9 \pm 3,03 \times 10^8$	$2,09 \times 10^9 \pm 3,28 \times 10^7$	$5,94 \times 10^9 \pm 6,67 \times 10^9$	$3,15 \times 10^9 \pm 3,41 \times 10^9$
CTD-70	$2,60 \times 10^9 \pm 1,12 \times 10^8$	$4,82 \times 10^7 \pm 3,67 \times 10^6$	$3,11 \times 10^9 \pm 4,21 \times 10^8$	$4,68 \times 10^8 \pm 1,40 \times 10^7$
FD	$1,02 \times 10^9 \pm 2,30 \times 10^9$	$3,29 \times 10^8 \pm 5,63 \times 10^8$	$2,04 \times 10^9 \pm 1,85 \times 10^9$	$2,86 \times 10^8 \pm 2,23 \times 10^7$

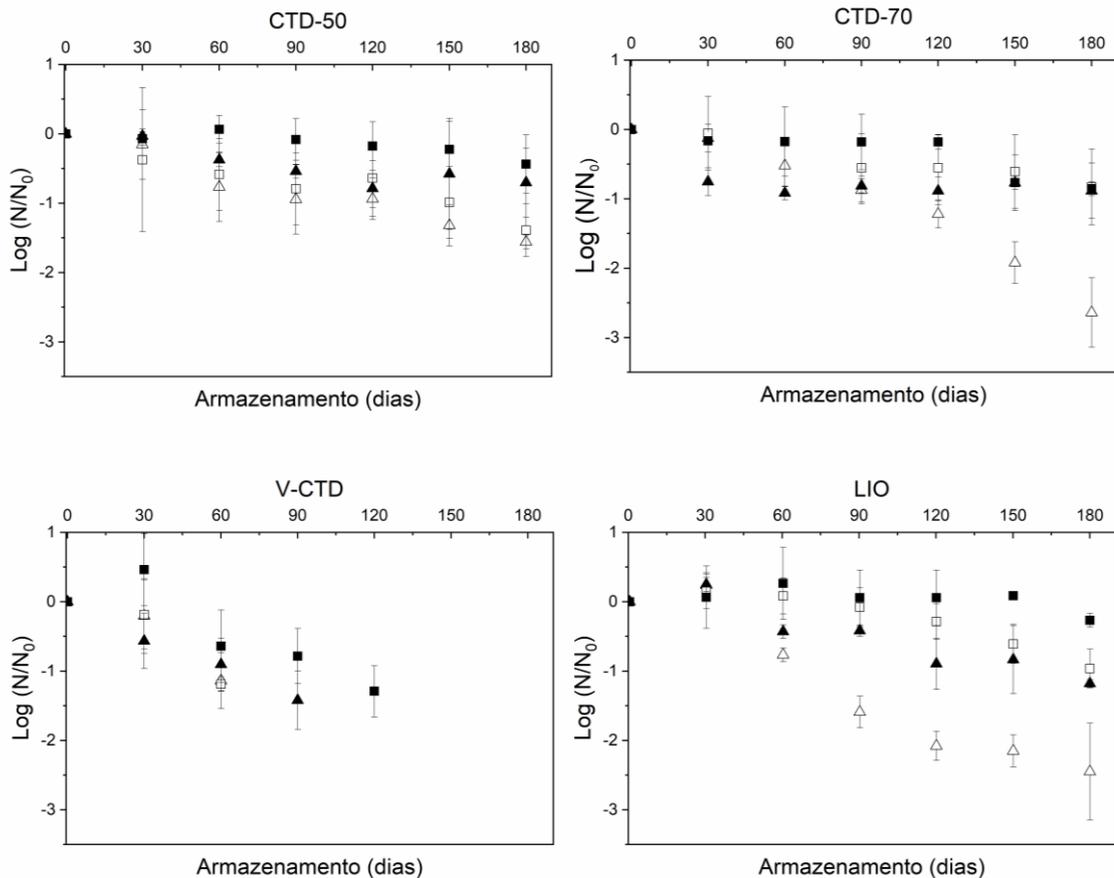
Processos de secagem- CTD-50: *Cast tape drying* secos a 50 °C; CTD-70: *Cast tape drying* secos a 70 °C; FD: Liofilização. LFL - leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico livres; LFE - leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico encapsulados.

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

Na Figura 23 estão apresentados os resultados da viabilidade microbiana dos pós durante o armazenamento por 180 dias (CTD-50, CTD-70 e LIO), ou até redução da viabilidade abaixo de 10^6 UFC/g (V-CTD, avaliado até 120 dias). As amostras foram

armazenadas em umidades relativas de 26% e 48%, à temperatura controlada de 20 °C.

Figura 23 – Viabilidade dos pós de leite fermentado probiótico armazenados à 20 °C, em UR de 26% e UR 48%.



Processos de secagem- CTD-50: *Cast tape drying* secos a 50 °C; CTD-70: *Cast tape drying* secos a 70 °C; V-CTD: *Cast tape drying* sob vácuo; LIO: Liofilização. LFL - leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico livres (símbolos abertos); LFE - leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico encapsulados (símbolos cheios). Umidade relativa de armazenamento - 26% (quadrado) e 48% (Triângulo).

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

O processo de secagem por CTD-50 manteve a contagem microbiana suficientemente alta nas amostras adicionadas de microrganismos livres e encapsulados, durante o armazenamento nas condições de UR de 26% e 48%,

durante 180 dias. Houve redução de aproximadamente 1 log para o LFL e menos de 1 log para o LFE. As amostras em pó, secadas por CTD-70, armazenadas em UR de 48%, tiveram redução de aproximadamente 1 log para o LFE, mantendo a viabilidade mínima (10^6 UFC/g) por 180 dias, e de aproximadamente 2 logs para o LFL, mantendo a viabilidade mínima (10^6 UFC/g) por 120 dias. Na condição de 26% de UR, as amostras LFL e LFE apresentaram redução de aproximadamente 1 log na contagem de microrganismos, permanecendo desta forma com contagem acima do exigido para probióticos por 180 dias.

No processo de secagem por liofilização, os microrganismos presentes nos pós mantiveram-se viáveis por 180 dias. Na condição de armazenamento em UR de 26%, os pós mantiveram-se mais estáveis em comparação com as demais condições de armazenamento (48% e 67%). Na condição de UR de 48%, o LFL apresentou redução de aproximadamente 2,5 logs, enquanto o LFE reduziu em aproximadamente 1 log. Dentre os pós produzidos pelos diferentes processos de secagem, o pó produzido por V-CTD foi o que apresentou maior redução da viabilidade microbiana durante o armazenamento, tanto em UR de 26% quanto em UR de 48%. Os LFL permaneceram por apenas 30 dias com a viabilidade mínima exigida, enquanto os LFE permaneceram viáveis por 90 e 120 dias nas URs de 48% e 26%, respectivamente. Costa (2017) avaliou a *shelf-life* de iogurte natural seco por liofilização e V-CTD (50 °C), acondicionado em embalagens a vácuo a 25 °C, sem controle de umidade relativa. As amostras secas por V-CTD permaneceram viáveis por 7 dias, enquanto aquelas liofilizadas permaneceram com células viáveis por 14 dias. Assim, a temperatura da água de secagem do V-CTD neste trabalho (70 °C) ocasionou maiores perdas da viabilidade durante o armazenamento.

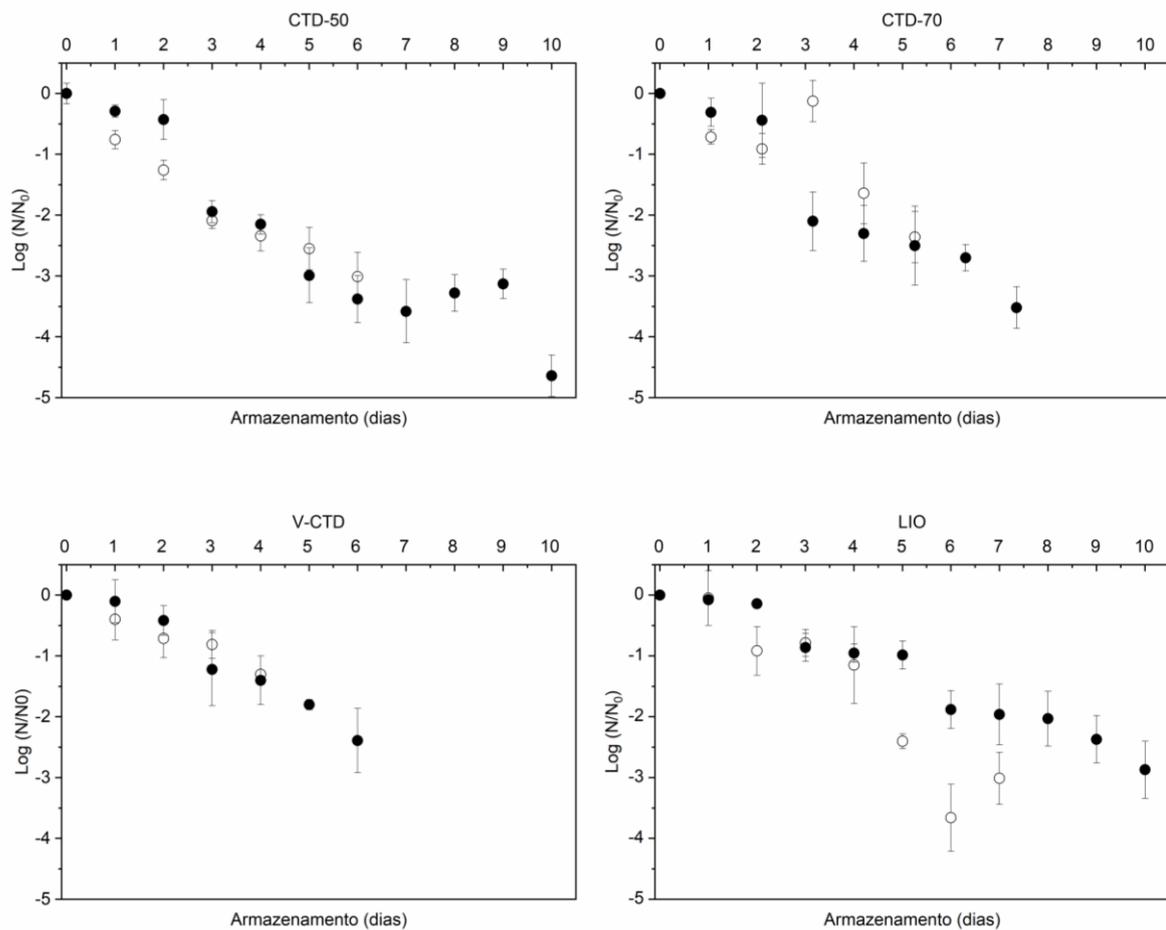
A UR de condicionamento, os métodos de secagem e por fim a forma como o microrganismo foi adicionado ao leite fermentado, livre ou encapsulado, apresentaram influência na viabilidade do *L. fermentum* durante o armazenamento.

Os pós acondicionados em UR de 67% apresentaram viabilidade reduzida para todos os casos, com vida útil de até 10 dias, como apresentado na Figura 24. Nos processos de secagem por CTD-50 e liofilização, os microrganismos do LFE apresentaram viabilidade por 10 dias, enquanto para os mesmos processos os microrganismos do LFL permaneceram viáveis por no máximo 6 dias. Os pós obtidos

por CTD-70 permaneceram com viabilidade por 5 e 7 dias, e para o V-CTD a 70 °C permaneceram com viabilidade por 4 e 6 dias para o LFL e LFE, respectivamente.

Esses resultados estão provavelmente relacionados com a a_w dos pós, que não permite o crescimento microbiano, mas não protege os microrganismos de possíveis atividades metabólicas deletérias, fato que tem sido amplamente relatado na literatura como um fator relevante na sobrevivência dos microrganismos.

Figura 24 – Viabilidade dos pós de leite fermentado probiótico armazenados em UR de 67%, obtidos pelos diferentes processos de secagem.



Processos de secagem- CTD-50: *Cast tape drying* secos a 50 °C; CTD-70: *Cast tape drying* secos a 70 °C; V-CTD: *Cast tape drying* sob vácuo; LIO: Liofilização. LFL - leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico livres (símbolos abertos); LFE - leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico encapsulados (símbolos cheios). Umidade relativa de armazenamento - 67%.

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

Martin et al. (2013) estudaram a viabilidade do *L. fermentum* encapsulados por gelificação interna com alginato e amido, e posterior secagem por liofilização. Eles compararam as viabilidades microbianas nas micropartículas liofilizadas nas partículas não liofilizadas. Os autores observaram que a contagem diminuiu em 2,5 logs após 30 dias a 4 °C e -20 °C e uma inativação total em menos de 2 semanas à temperatura ambiente (25 °C). Portanto, as micropartículas obtidas por liofilização tiveram menor viabilidade quando comparadas com as não liofilizadas.

Os autores explicaram que devido a não utilização de agentes protetores durante a secagem, pode ter ocorrido danos no estado fisiológico das células, uma vez que os organismos probióticos são sensíveis à liofilização, o que ocasionou uma inativação quase completa das bactérias.

Os resultados obtidos neste trabalho indicam que a microencapsulação dos microrganismos em cápsulas de alginato e amido favoreceram a viabilidade durante o armazenamento, uma vez que a redução da viabilidade dos probióticos encapsulados durante o armazenamento foi menor. Durante a formação das partículas, o amido favorece a formação de redes poliméricas onde as células ficam presas e parcialmente isoladas das condições ambientais (MARTIN et al., 2013).

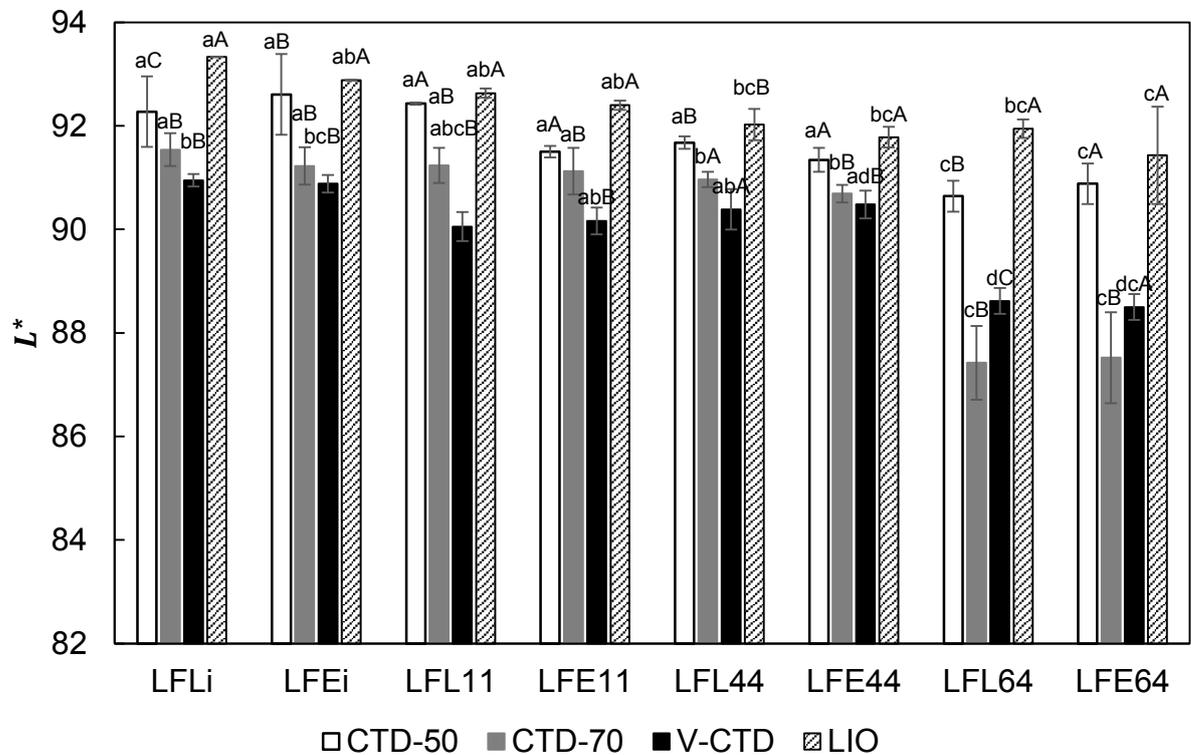
5.2.1.2 Cor

Os parâmetros da escala de cor CIELab (L^* , a^* e b^*) das amostras de leite fermentado probiótico em pó adicionados de microrganismos livres ou encapsulados, obtidos por diferentes processos de secagem, e armazenados em diferentes condições de UR, estão apresentados na Figura 25, Figura 26 e Figura 27, respectivamente. Os pós foram armazenados por no máximo 180 dias, cessando quando a amostra estava com limite de viabilidade abaixo do permitido para produtos probióticos (10^6 UFC/g).

Em relação ao parâmetro L^* (Figura 25), é possível observar que as amostras no tempo inicial de acondicionamento nas diferentes UR (26%, 48% e 67%) mostraram um padrão, sem diferenças entre elas (CTD-50 e LIO), assim como entre as amostras obtidas por V-CTD e CTD-70. Foi possível observar esse padrão ao final do armazenamento das amostras acondicionadas na UR de 26% e 48%. Para maiores

UR de acondicionamento houve redução da luminosidade, o que não ocorreu para as amostras acondicionadas em UR de 26%. Os pós obtidos pelo processo de liofilização foram os que mantiveram maior luminosidade (maior tendência ao branco) entre os processos de secagem. Este resultado pode ser atribuído ao fato de a temperatura utilizada no processo de liofilização ser muito menor do que nos outros processos de secagem, com menor possibilidade de ocorrência de reações de escurecimento não enzimático, como reação de Maillard. A degradação de pigmentos é normalmente observada na diminuição de luminosidade, e pode estar relacionada a reações de escurecimento não enzimáticas ocorridas nas amostras, como por exemplo reações de Maillard (HASSAN; PAWELZIK; VON HOERSTEN, 2021). As amostras acondicionadas em UR de 67% foram as que sofreram maiores reduções da luminosidade, quando comparadas com as demais UR de acondicionamento. O encapsulamento não influenciou na luminosidade das amostras, quando considerado o mesmo processo de secagem e a mesma condição de armazenamento (UR). Costa (2017) avaliou a cor dos pós de iogurte natural secados por V-CTD e liofilização. Os pós desidratados por liofilização mostraram maior luminosidade, $L^* = 97,02$, valor superior ao encontrado neste trabalho para leite fermentado.

Figura 25 – Parâmetros de cor da escala CIELab (L^*) das amostras durante o armazenamento em diferentes UR de pós de leite fermentado probiótico, obtidos por diferentes métodos de secagem.



LFLi – Leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico livre no tempo 0 de armazenamento para todos os processos de secagem na umidade relativa de 26%, 48% e 67%

LFEi – Leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico encapsulado no tempo 0 de armazenamento para todos os processos de secagem na UR de 26%, 48% e 67%

LFL11 – Leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico livre armazenado em UR de 26%

LFE11 – Leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico encapsulado armazenado em UR de 26%

LFL44 – Leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico livre armazenado em UR de 48%

LFE44 – Leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico encapsulado armazenado em UR de 48%

LFL64 – Leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico livre armazenado em UR de 67%

LFE64 – Leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico encapsulado armazenado em UR de 67%

CTD-50: *Cast tape drying* secos a 50°C; CTD-70: *Cast tape drying* secos a 70°C; V-CTD: *Cast tape drying* sob vácuo; LIO: Liofilização.

O tempo final (dias) foi diferente dependendo do processo e condições de UR, como descrito a seguir:

CTD-50 (UR 26% e 48%) (livre e encapsulado) = 180 dias; (UR 67%) Livre = 5 dias, Encapsulado = 10 dias.

CTD-70 (UR 26% e 48%) (livre e encapsulado) = 180 dias; (UR 67%) Livre = 3 dias, Encapsulado = 5 dias.

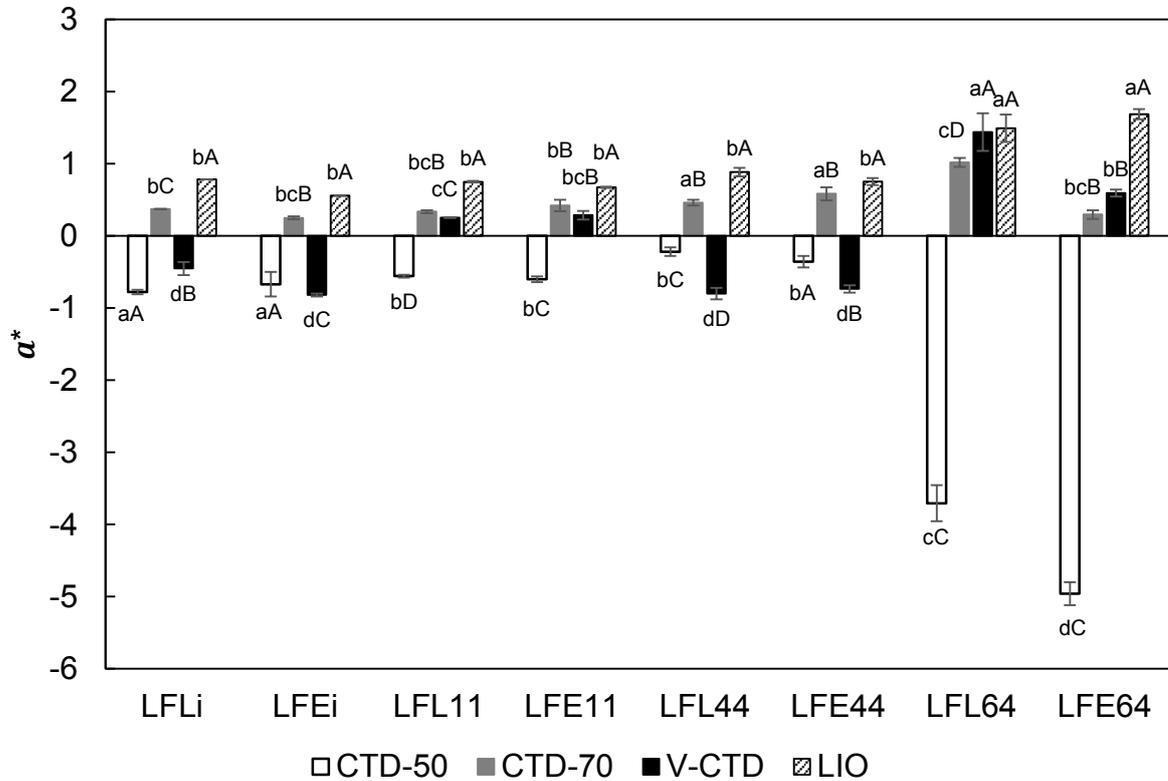
Lio (UR 22% e 48%) (livre e encapsulado) = 180 dias; (UR 67%) Livre = 5 dias, Encapsulado = 10 dias.
V-CTD (22%) Livre = 30 dias, Encapsulado = 120 dias; (48%) Livre = 30 dias, Encapsulado = 90 dias; (67%) Livre = 1 dias, Encapsulado = 3 dias.

Letras minúsculas diferentes na coluna representam diferenças significativas entre as amostras no mesmo processo de secagem, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Letras maiúsculas diferentes na coluna representam diferenças significativas entre os tratamentos, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

O parâmetro a^* (Figura 26) aumentou com o aumento da UR. Nas condições de armazenamento de 26% e 48% as amostras livres e encapsuladas, ao final do armazenamento, não diferiram estatisticamente dentro do mesmo processo de secagem para CTD-50 e Liofilização, enquanto na condição de armazenamento de UR de 67%. Não houve influência na forma livre ou encapsulado no tempo zero (0) para as diferentes UR (26%, 48% e 67%), assim como não houve para o tempo final de armazenamento das condições de UR de 26% e 48%. Já na condição de UR 67% houve influência na forma livre e encapsulado, exceto para o processo de secagem LIO.

Figura 26 – Parâmetros de cor da escala CIELab (a^*) das amostras durante o armazenamento em diferentes UR de pós de leite fermentado probiótico, obtidos por diferentes métodos de secagem.



LFLi – Leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico livre no tempo 0 de armazenamento para todos os processos de secagem na umidade relativa de 26%, 48% e 67%

LFEi – Leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico encapsulado no tempo 0 de armazenamento para todos os processos de secagem na UR de 26%, 48% e 67%

LFL11 – Leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico livre armazenado em UR de 26%

LFE11 – Leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico encapsulado armazenado em UR de 26%

LFL44 – Leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico livre armazenado em UR de 48%

LFE44 – Leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico encapsulado armazenado em UR de 48%

LFL64 – Leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico livre armazenado em UR de 67%

LFE64 – Leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico encapsulado armazenado em UR de 67%

CTD-50: *Cast tape drying* secos a 50°C; CTD-70: *Cast tape drying* secos a 70°C; V-CTD: *Cast tape drying* sob vácuo; LIO: Liofilização.

O tempo final (dias) foi diferente dependendo do processo e condições de UR, como descrito a seguir:

CTD-50 (UR 26%, 48% e 67%) (livre e encapsulado) = 180 dias; (UR 67%) Livre = 5 dias, Encapsulado = 10 dias.

CTD-70 (UR 26% e 48%) (livre e encapsulado) = 180 dias; (UR 67%) Livre = 3 dias, Encapsulado = 5 dias.

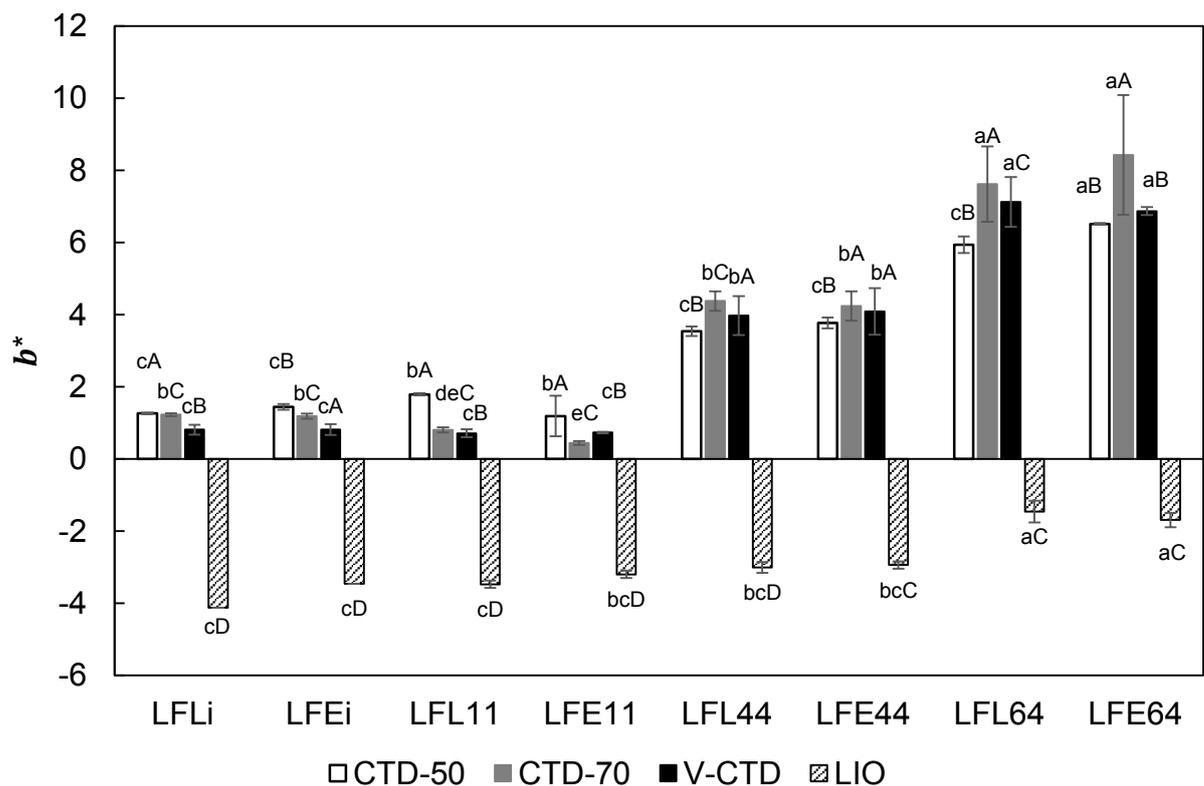
Lio (UR 26% e 48%) (livre e encapsulado) = 180 dias; (UR 67%) Livre = 5 dias, Encapsulado = 10 dias.

V-CTD (26%) Livre = 30 dias, Encapsulado = 120 dias; (48%) Livre = 30 dias, Encapsulado = 90 dias; (67%) Livre = 1 dias, Encapsulado = 3 dias.

Letras minúsculas diferentes na coluna representam diferenças significativas entre as amostras no mesmo processo de secagem, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Letras maiúsculas diferentes na coluna representam diferenças significativas entre os tratamentos, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

Figura 27 – Parâmetros de cor da escala CIELab (b^*) das amostras durante o armazenamento em diferentes UR de pós de leite fermentado probiótico, obtidos por diferentes métodos de secagem.



LFLi – Leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico livre no tempo 0 de armazenamento para todos os processos de secagem na umidade relativa de 26%, 48% e 67%

LFEi – Leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico encapsulado no tempo 0 de armazenamento para todos os processos de secagem na UR de 26%, 48% e 67%

LFL11 – Leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico livre armazenado em UR de 26%

LFE11 – Leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico encapsulado armazenado em UR de 26%

LFL44 – Leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico livre armazenado em UR de 48%

LFE44 – Leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico encapsulado armazenado em UR de 48%

LFL64 – Leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico livre armazenado em UR de 67%

LFE64 – Leite fermentado adicionado de microrganismo probiótico encapsulado armazenado em UR de 67%

CTD-50: *Cast tape drying* secos a 50°C; CTD-70: *Cast tape drying* secos a 70°C; V-CTD: *Cast tape drying* sob vácuo; LIO: Liofilização.

O tempo final (dias) foi diferente dependendo do processo e condições de UR, como descrito a seguir: CTD-50 (UR 26% e 48%) (livre e encapsulado) = 180 dias; (UR 67%) Livre = 5 dias, Encapsulado = 10 dias.

CTD-70 (UR 26% e 48%) (livre e encapsulado) = 180 dias; (UR 67%) Livre = 3 dias, Encapsulado = 5 dias.

Lio (UR 26% e 48%) (livre e encapsulado) = 180 dias; (UR 67%) Livre = 5 dias, Encapsulado = 10 dias.

V-CTD (UR 26%) Livre = 30 dias, Encapsulado = 120 dias; (UR 48%) Livre = 30 dias, Encapsulado = 90 dias; (UR 67%) Livre = 1 dias, Encapsulado = 3 dias.

Letras minúsculas diferentes na coluna representam diferenças significativas entre as amostras no mesmo processo de secagem, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Letras maiúsculas diferentes na coluna representam diferenças significativas entre os tratamentos, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

O parâmetro b^* (Figura 27) aumentou com o aumento da UR nos processos de secagem, exceto para o processo de secagem CTD-70, que em UR mais baixa (26%) reduziu, porém nas UR de 48% e 67% aumentaram. O parâmetro b^* representa a variação de cor de azul ($-b^*$) ao amarelo (b^*) cor característica dos pós de leite fermentado desidratado. Não houve influência em relação ao parâmetro b^* quanto a forma livre ou encapsulada do microrganismo na mesma condição de acondicionamento.

5.3 ESTUDO III - REIDRATAÇÃO DO PÓ DE LEITE FERMENTADO CONTENDO MICRORGANISMOS LIVRES OU ENCAPSULADOS OBTIDOS PELO MÉTODO CTD-70

5.3.1 Caracterização do pó

5.3.1.1 Densidade aparente, densidade real e porosidade

Os valores de densidade aparente, densidade real e porosidade dos pós de leite fermentado com adição de microrganismos probióticos livres e encapsulados estão apresentados na Tabela 6. A porosidade é a fração de vazios existentes na amostra de pó, estando relacionada à densidade aparente (LEE; YOO, 2020). São características importantes para armazenamento, transporte e embalagem dos produtos em pó. Houve diferença significativa entre as amostras para a densidade aparente e a porosidade enquanto para a densidade real não houve diferença significativa entre as amostras.

Tabela 6 – Densidade aparente, densidade real e porosidade dos pós de leite fermentado probiótico obtidos por CTD-70.

Leite fermentado em pó	Densidade aparente (g.cm⁻³)	Densidade real (g.cm⁻³)	Porosidade (%)
Livre	0,80 ± 0,02 ^a	1,49 ± 0 ^a	0,44 ± 0,01 ^b
Encapsulado	0,75 ± 0,01 ^b	1,48 ± 0 ^a	0,47 ± 0,01 ^a

Letras diferentes na coluna representam diferenças significativas entre as amostras pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

Os valores obtidos para os pós, para a densidade aparente, encontram-se na faixa citadas por Barbosa-Cánovas et al. (2005), entre 0,3 e 0,8 g.cm⁻³ e massa específica real próxima de 1,4 g.cm⁻³ para alimentos em pó. A amostra LFE com menor densidade aparente apresentou porosidade significativamente maior do que a amostra LFL. Portanto, a adição de cápsulas à amostra resultou em maior porosidade do leite de partículas secas.

Costa, 2017 estudando o iogurte seco em CTD a vácuo, obteve valores de densidade aparente e densidade real inferiores ao deste trabalho, obteve 0,57 g. cm⁻³ e 1,33 g. cm⁻³ respectivamente. Para a porosidade, o autor obteve valores superiores de 57 %, para pós obtidos por V-CTD, pois a aplicação do vácuo cria um aspecto esponjoso nas partículas, o que não ocorre no processo de CTD sem aplicação do vácuo. Zotarelli et al. (2017), na produção de pó de manga por CTD, reportaram valores de densidade aparente, densidade real e porosidade de 0,80 g.cm⁻³, 1,28 g.cm⁻³ e 38%, respectivamente. Observa-se que os valores encontrados de densidade real estão bem próximos ao deste trabalho. Assim, o tipo de produto a ser seco e o método de secagem podem influenciar nos parâmetros analisados. Valores inferiores de densidade aparente foram reportados por Yuksel (2021) ao estudar iogurte em pó seco por esteira de espuma assistida por micro-ondas, em que os valores variaram de 0,44 e 0,63 g.cm⁻³. Densidades maiores são desejáveis para a redução dos custos de transporte e embalagem (CALISKAN KOC et al., 2020).

5.3.1.2 Solubilidade (SOL)

SOL é um parâmetro importante especialmente para produtos instantâneos (TONTUL et al., 2018). O valor de solubilidade das amostras em pó produzidas por CTD para amostras encapsuladas (48,2%) foi muito inferior ao das amostras livres (69,3%), como demonstrado na Tabela 7, havendo diferença significativa entre as amostras. TONTUL et al. (2018) reportaram dados sobre a solubilidade de pós de iogurte produzidos por RW. Eles observaram solubilidade entre 46,5% – 49,6% (valores que corroboram os obtidos para o LFE no presente estudo).

Tabela 7 - Solubilidade dos pós do leite fermentado probiótico obtidos por CTD-70.

Leite fermentado em pó	Solubilidade (%)
Livre	69,3 ± 0 ^a
Encapsulado	48,2 ± 0,2 ^b

Letras diferentes na coluna representam diferenças significativas entre as amostras pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

As diferenças entre as amostras de LFL e LFE podem ser devidas às diferenças na composição das amostras de leite fermentado utilizadas nos processos de secagem, visto que na amostra de LFE têm cápsulas de alginato e amido. Estudos indicam que o processo de secagem por *spray-drying* resulta em pós que podem apresentar maiores solubilidades para um mesmo produto, se comparado com o processo de CTD, devido à adição de agentes carreadores usados para a secagem. Tontul et al. (2018) relatou que a temperatura de secagem e a espessura de espalhamento não afetaram a solubilidade de amostras de pó produzidas por secagem por RW.

A reidratação dos pós pode resultar em produtos diferentes do original, podendo ser justificado pela reorganização das estruturas, alterando a ligação das proteínas com a água. Neste estudo foi observada a sedimentação de partículas após a reidratação. Hoge Kamp e Schubert (2003) afirmam que a fim de evitar a formação de sedimentos durante a reidratação é indicado utilizar partículas pequenas ou aumentar a viscosidade do líquido, adicionando menos água.

5.3.1.3 *Tempo de dispersão e distribuição de tamanho de partícula*

Na Tabela 8 são mostrados o tempo de dispersão dos pós obtidos pelo processo CTD-70. O tempo de dispersão está relacionado com o tempo para que o líquido penetre no pó ou aglomerado de partículas, o que depende da porosidade, tamanho, geometria e composição da superfície das partículas (HOGEKAMP; SCHUBERT, 2003; FORNY; MARABI; PALZER, 2011).

Tabela 8 – Tempo de dispersão dos pós do leite fermentado probiótico obtidos por CTD-70.

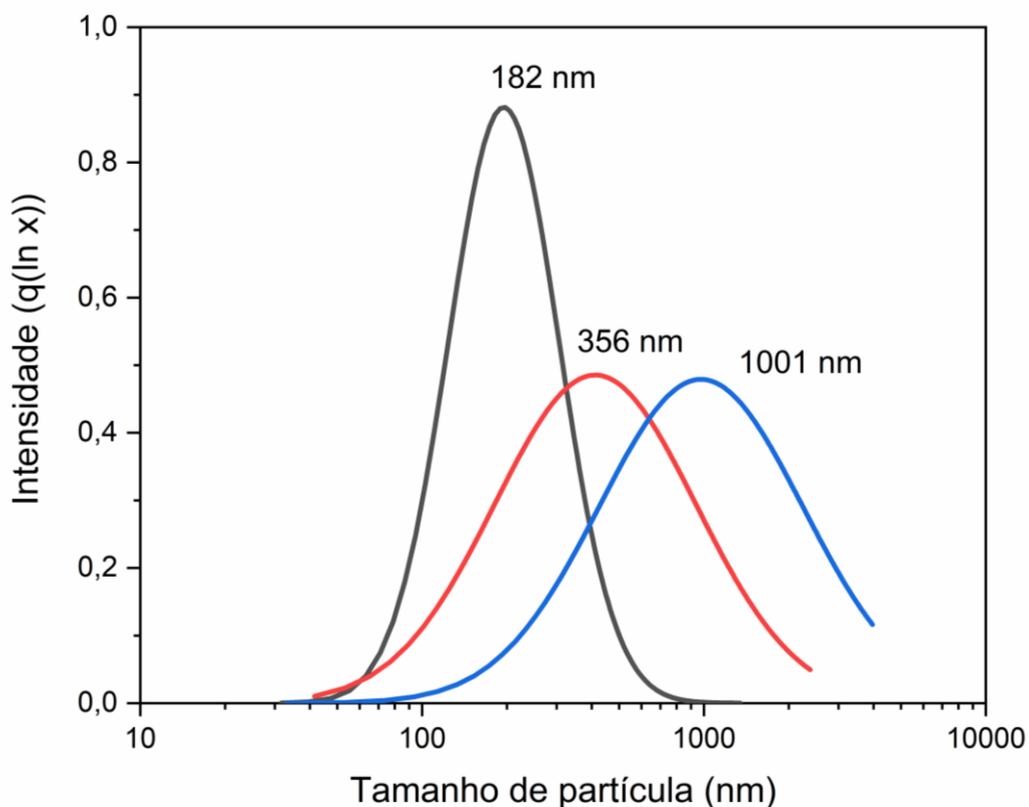
Leite fermentado em pó	Dispersion time (min)
Livre	12,7 ± 0,7 ^a
Encapsulado	1,2 ± 0,1 ^b

Letras diferentes na coluna representam diferenças significativas entre as amostras pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

A diferença de tempo de dispersão entre os pós pode estar relacionada com a diferença de tamanho entre as partículas dos pós. Segundo Vissotto et al. (2006), o tamanho das partículas está relacionado com a penetração da água nos pós, afirmam que partículas maiores e de formato irregulares favorecem a molhabilidade do pó, enquanto partículas menores ocasionam reduções dos espaços intersticiais, o que dificulta a infiltração da água.

Na Figura 28 é apresentada a distribuição do tamanho de partículas. Observa-se que o leite fermentado em pó adicionado de cápsulas obteve um tamanho médio quase 2 vezes maior que o leite fermentado adicionado de microrganismos livres, o que já se era esperado, devido à adição das cápsulas contendo microrganismo ao leite fermentado antes da secagem por CTD.

Figura 28 –Tamanho de partículas.



Leite fermentado com probiótico livre (preto); Cápsulas (azul); Leite fermentado com probiótico encapsulado (vermelho). Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

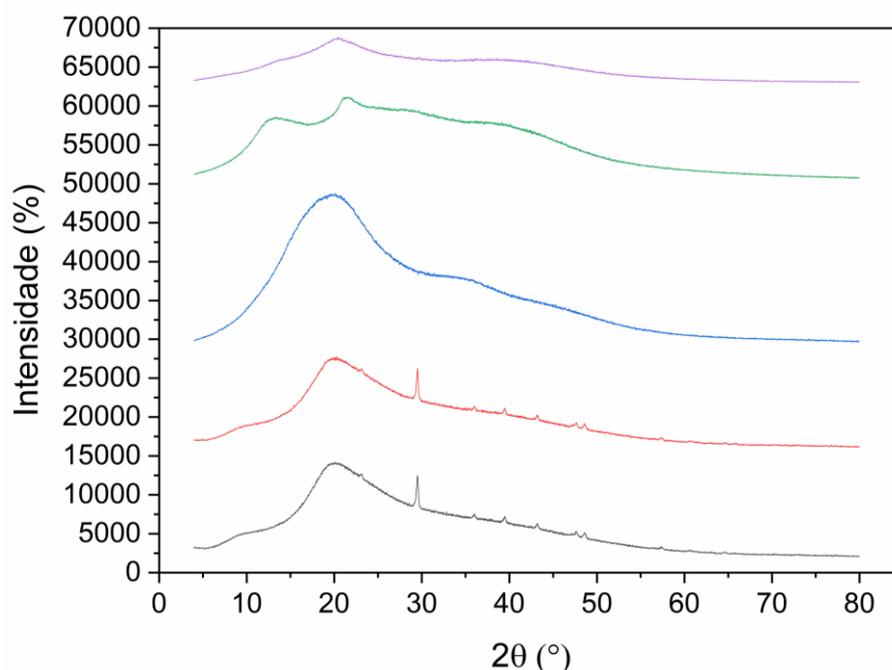
Foram obtidas cápsulas com microrganismo probiótico em seu interior no tamanho médio de 1.001 nm. Portanto, o tamanho de partícula obtido é adequado para aplicação em alimentos, pois foi relatado que partículas macias e arredondadas não são perceptíveis até cerca de 80.000 nm (LAWLESS; HEYMANN, 2010). Martin et al. (2013) obtiveram cápsulas de alginato e amido com *Lactobacillus fermentum* no tamanho médio de 3.200-4.900 nm. Romano et al. (2018) estudando as partículas de inulina amorfas e cristalinas durante a secagem por spray-drying de *L. plantarum* CIDCA 83114 obtiveram partículas no tamanho variando de 870 - 7.490 nm. Seshamamba et al. (2016) estudando iogurte em pó, com 13,8% SST por spray-drying obtiveram partículas com tamanho de $1,41 \times 10^8$ nm.

Podemos observar que neste trabalho foram obtidas partículas menores que as relatadas na literatura. A velocidade de agitação na obtenção das cápsulas, além da trituração em moinho de facas e posterior peneiramento em peneiras 20 mesh após a secagem do leite fermentado podem ser fatores relevantes para estes resultados.

5.3.1.4 Difractometria de raios-X (DRX) e Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

Os difratogramas de raios-X para as amostras de pós de leite fermentado probióticos adicionados de microrganismos livres e encapsulados, dos produtos de obtenção das cápsulas (amido e alginato) e as cápsulas estão apresentados na Figura 29.

Figura 29 – Difratomogramas de raios-X do amido, alginato, cápsulas e das amostras de leite fermentado probiótico obtidas por CTD-70.



Cápsulas (Roxa), Alginato (verde), amido (azul), leite fermentado adicionados de microrganismo probiótico encapsulado (vermelho), leite fermentado adicionados de microrganismo probiótico livre (preto)

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

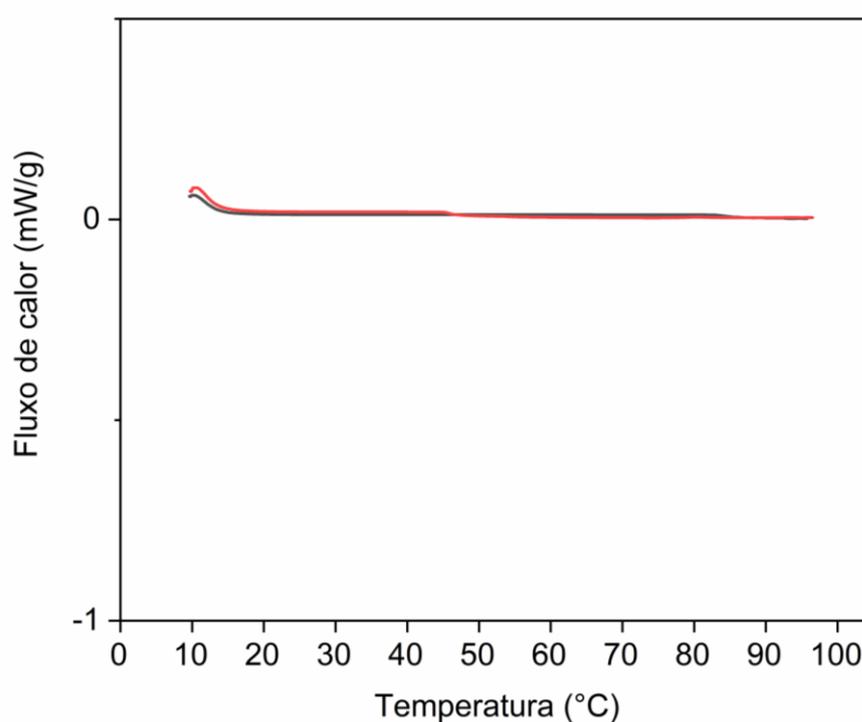
As diferenças observadas estão relacionadas à intensidade relativa de difração. A intensidade do pico para a amostra LFL é menor, porém, ambas apresentam o mesmo comportamento, indicando que o padrão de difração entre elas foi semelhante. Para as amostras LFL e LFE, foram encontrados picos característicos próximos a 20° e a 30° , indicando que a adição das cápsulas antes da secagem não apresentou efeito sobre os padrões das estruturas químicas das amostras. O pico de 23° já foi reportado em trabalhos encontrados na literatura, característico de amostras que contêm amido (SINGH; INOUCHI; NISHINARI, 2006). Porém é possível observar que o LFL também teve esse pico característico, podendo ser característico de produtos obtido a partir do leite. Não foram encontrados na literatura resultados que suportem uma discussão mais detalhada.

O amido usado foi pré-gelatinizado, o que já favorece a obtenção de estruturas amorfas. Os difratogramas de raios-X sugerem que todas as amostras se apresentam

em estado amorfo, pois não foram verificados picos característicos de estruturas cristalinas.

As análises de DSC não mostraram nenhuma mudança endotérmica nas amostras analisadas.

Figura 30 – Termograma de DSC para as amostras em pó de leite fermentado adicionados de microrganismo probiótico livre (LFL) (Azul) e encapsulado (LFE) (Vermelho) obtidos por CTD-70.



Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

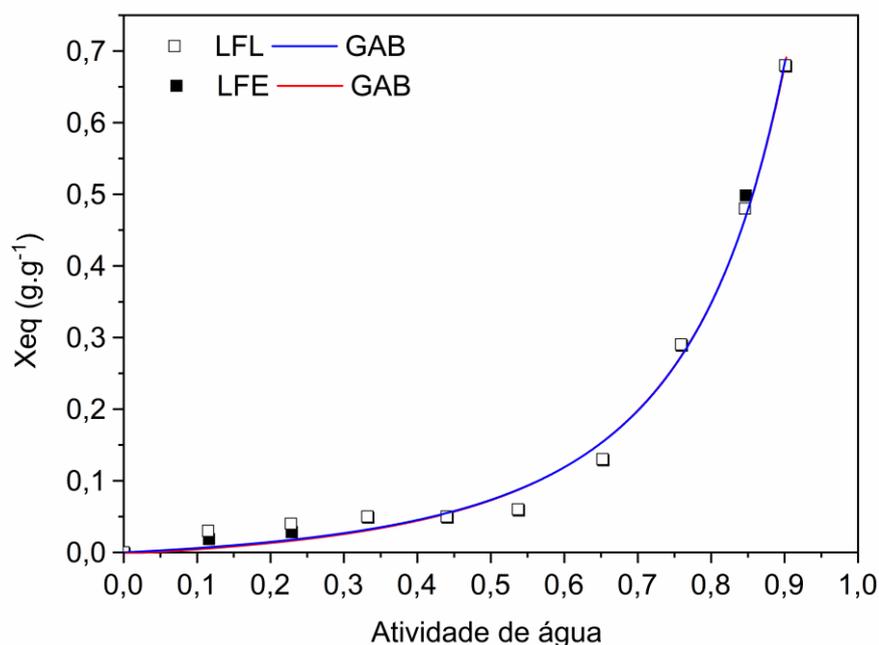
5.3.1.5 *Isotermas de sorção de umidade*

As isotermas de sorção de umidade dos pós de leite fermentado probiótico livre e encapsulados obtidos pelo processo CTD e os ajustes do modelo de GAB aos dados experimentais são apresentados na Figura 31. As informações dadas pelas características de sorção é uma ferramenta essencial no que diz respeito à estabilidade no armazenamento e aceitabilidade de produtos alimentícios (PAVAN, SCHMIDT; FENG, 2012). O modelo de GAB é relatado na literatura como o que

melhor representa as isotermas de sorção de umidade de alimentos (BONOMI et al., 2012)

As isotermas de sorção de umidade obtidas correspondem ao tipo III, que são típicas de alimentos com alto teor de sólidos solúveis (BRUNAUER et al., 1940). Nesses produtos ocorre um grande aumento nos valores de a_w para pequenas variações do teor de umidade de equilíbrio, na região de baixas a_w . Quando os valores de a_w se aproximam de 0,5, ela varia pouco para grandes aumentos da umidade de equilíbrio, devido ao efeito predominante das interações soluto-solvente associadas à dissolução do açúcar (BHANDARI, 2013; MORAGA; MARTÍNEZ-NAVARRETE; CHIRALT, 2004; THYS et al., 2010).

Figura 31 – Isotermas de sorção de umidade do leite fermentado probiótico adicionado de microrganismo livre (LFL) (Azul) e encapsulado (LFE) (Vermelho), obtidos por CTD-70.



Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

O modelo de GAB ajustou-se bem aos dados experimentais, apresentando valores de $R^2 > 0,99$ e $RMSE = 0,003$ (Tabela 9). Portanto, o modelo GAB, além de

apresentar boa correlação, pode ser utilizado para determinar a umidade na monocamada.

Tabela 9 – Parâmetros do modelo de GAB para os leites fermentados probióticos produzidos por CTD-70.

Pó	Parâmetros				
	$X_m(\text{b.s})$	C	k	R^2	RMSE
LFL	0,123	0,095	0,861	0,991	0,003
LFE	0,166	0,092	0,857	0,991	0,003

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

De acordo com Labuza e Rahman (2007), a umidade da monocamada X_m indica a quantidade de água que está fortemente ligada no alimento, sendo um parâmetro importante para predizer a estabilidade física e química dos produtos secos (AYRANCI; DUMAN, 2005). Os valores do teor de umidade da monocamada X_m estimados para o leite fermentado probiótico livre e encapsulado ficaram próximos de $0,1 \text{ g.g}^{-1}$ (b.s). A umidade na monocamada garante a qualidade do alimento e, deve ser inferior a $0,1 \text{ g.g}^{-1}$ (b.s), na qual as taxas de deterioração são mínimas. Observamos que os valores obtidos na monocamada neste trabalho estão próximos. As constantes C e k estão relacionadas às energias de interação entre a primeira e outras moléculas nos sítios de adsorção individuais (AL-MUHTASEB; MCMINN; MAGEE, 2002).

5.3.2 Reconstituição do pó

Os pós desidratados por CTD a $70 \text{ }^\circ\text{C}$ foram reconstituídos até apresentarem o mesmo teor de SST que as amostras antes de serem secas. Os pós reconstituídos mantiveram sua viabilidade microbiológica desejada para produtos probióticos (mínimo de 10^6 UFC/g - 10^7 UFC/g), tanto para o LFL e LFE.

5.3.2.1 Parâmetros físico-químicos dos pós reconstituídos

Os parâmetros de umidade, atividade de água, pH e sólidos solúveis para as amostras reconstituídas em comparação com o leite fermentado antes de serem secos estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10 – Caracterização físico-química dos pós reconstituídos comparados com as amostras antes de secas.

Amostra		Umidade (g.g ⁻¹)	a_w	pH	SST (°Brix)	Acidez em ácido láctico (g/100g)
Inicial	LFL	5,9 ^a ± 0,4	0,991 ^a ± 0	5,5 ^a ± 0,2	11,6 ^a ± 0,1	0,6 ^a ± 0
	LFE	6,3 ^a ± 0,6	0,994 ^a ± 0	5,7 ^a ± 0,1	11,6 ^a ± 0,1	0,6 ^a ± 0
Pó reconstituído	LFL	4,3 ^b ± 0	0,995 ^a ± 0	5,7 ^a ± 0	11,2 ^a ± 0,2	0,6 ^a ± 0
	LFE	4,4 ^b ± 0	0,996 ^a ± 0	5,7 ^a ± 0	11,3 ^a ± 0,1	0,6 ^a ± 0

*Letras diferentes na coluna representam diferenças significativas entre as amostras pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

As amostras de leite fermentado adicionadas de microrganismo probiótico livre e encapsulado secos por CTD-70, após reconstituição, tiveram teores de umidade de 4,3 g.g⁻¹ e 4,4 g.g⁻¹, respectivamente. Esses valores são inferiores aos leites fermentados sem adição de microrganismos probióticos, que apresentaram umidades de 5,9 g.g⁻¹ e 6,3 g.g⁻¹ para LFL e LFE, respectivamente. No entanto, os valores de umidade do pó reconstituído estão próximos ao estabelecido pela Tabela Brasileira de Composição de Alimentos de 81,9% para leite fermentado (TACO, 2011).

Nas demais análises realizadas não foram observadas diferenças significativas entre o leite fermentado e o pó reconstituído.

A a_w variou de 0,991 a 0,996, valores similares aos obtidos por Costa (2017) para iogurte seco por V-CTD, a_w 0,993 para amostra antes de serem secas e 0,990 para amostra reconstituída. No entanto, isso depende essencialmente da proporção de água adicionada, em relação à massa de pó.

Os valores de pH das amostras iniciais e pó reconstituído estão entre 5,5 e 5,7, não apresentando diferenças significativas entre as amostras. A cepa (*Streptococcus thermophilus*) utilizada para obtenção do leite fermentado neste

estudo apresenta gelificação em pHs mais elevadas que o observado para iogurtes (próximo de pH 4,6) aproximadamente 5,5. Khanal e Lucey (2018) também mostraram pH mais elevados quando estudaram as propriedades do gel de leite fermentado por diferentes cepas de *Streptococcus thermophilus* (St-143 e DGCC7785) observaram pH variando de 5,1 a 5,4, valores próximos ao encontrado neste trabalho. Os autores observaram que era necessário a suplementação com peptona caso se deseje menores valores de pH.

Com relação à acidez em ácido láctico, não houve diferença significativa entre as amostras antes de serem secas e pó reconstituído, mostrando valores de aproximadamente 0,60 g/100g. De acordo com os padrões estabelecidos pela IN nº 46 de 2007 do MAPA, que exige entre 0,6 a 1,5 g/100g de produto lácteo (BRASIL, 2007), os produtos obtidos estão em conformidade.

Para SST não existem valores estabelecidos pela legislação para leite fermentado. Foi obtido SST de aproximadamente 11 °Brix. Valor superior ao encontrado por Costa (2017) que estudou iogurte natural reidratado por V-CTD, o valor encontrado foi de 7,63 °Brix e por Matos (2015), que estudou iogurte reidratado por liofilização, apresentando resultados de 7,93 °Brix. Esse valor superior pode estar relacionado a quantidade de leite em pó adicionado para a padronização de sólidos solúveis do leite usada para a fermentação.

5.3.2.2 Cor

Após a reidratação é desejável que o produto apresente a menor variação de cor possível em comparação com o leite fermentado antes da desidratação. Os parâmetros de cor dos pós reconstituídos foram comparados com os valores obtidos para o leite fermentado probiótico antes de serem secas (Tabela 11).

Tabela 11 – Parâmetros de cor das amostras de leite fermentado probiótico obtido por CTD-70 comparados com amostras antes de secas.

Amostra	Parâmetros				
		L^*	a^*	b^*	ΔE
Inicial	LFL	97,6 ^a ± 0,6	-0,8 ^a ± 0,52	-2,4 ^e ± 0,1	-
	LFE	97,1 ^a ± 0,5	-0,9 ^a ± 0,05	-2,3 ^e ± 0,2	-
Pó	LFL	92,5 ^b ± 0,6	-0,4 ^b ± 0,00	1,3 ^c ± 0,3	6,2 ^a ± 0,3
	LFE	92,2 ^b ± 0,4	-0,24 ^b ± 0,1	1,44 ^b ± 0,1	6,1 ^a ± 0,4
Pó reconstituído	LFL	91,5 ^c ± 0,1	-0,75 ^a ± 0	1,18 ^d ± 0,1	6,2 ^a ± 0,6
	LFE	91,1 ^d ± 0,1	-0,69 ^a ± 0,2	1,86 ^a ± 0,1	6,0 ^a ± 0,6

ΔE – Variação total de cor

*Letras diferentes na coluna representam diferenças significativas entre as amostras pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

Os pós reconstituídos apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) para os parâmetros L^* e b^* quando comparados com as amostras iniciais. É possível observar que houve redução da luminosidade (L^*) após a secagem. Costa (2017) também observou redução da luminosidade após a secagem de iogurte por V-CTD.

O parâmetro b^* aumentou após o processo de secagem, apresentando diferença significativa para as amostras LFL e LFE em relação a amostra inicial. Após a reidratação foi possível visualizar que nenhuma das amostras teve coloração semelhante à amostra inicial, apresentando diferença significativa, o que indica a intensidade de amarelo não retornou a cor inicial após a reconstituição.

O parâmetro a^* não foi significativamente diferente entre as amostras iniciais e pós reconstituídos. Houve uma alteração nesse parâmetro após o processo de secagem, no qual pode ser observado um aumento no seu valor, indicando uma maior tonalidade da coloração vermelha. Após a reconstituição do pó esse parâmetro reduziu, apresentando valores de a^* semelhante a amostra inicial, não apresentando diferença significativa.

A diferença de cor (ΔE) foi empregada para determinar a influência do processo na alteração de cor em relação a amostra inicial, quanto maior seu valor, maior é o impacto dos processos na coloração das amostras.

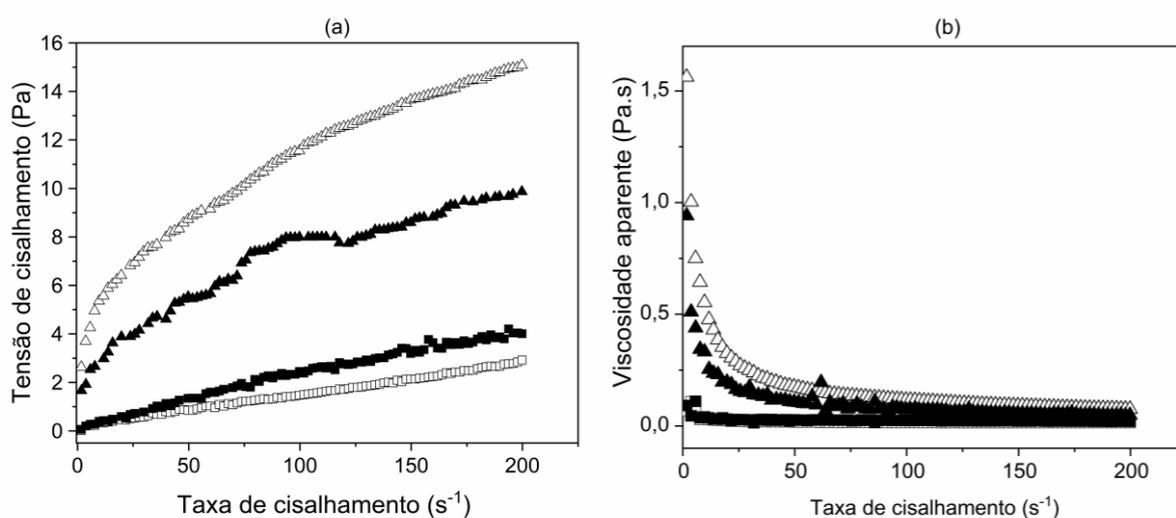
Comparando a diferença de cor do pó e reconstituídas é possível observar que as amostras não apresentaram diferença significativa entre si. A secagem causou uma baixa alteração na cor em relação a amostra inicial, apresentando valor de $\Delta E^* = 6,2 \pm 0,3$ e $6,1 \pm 0,4$ para LFL e LFE, respectivamente. Para todas as amostras, o valor de ΔE^* foi relativamente baixo, o que indica que a secagem não teve um grande impacto na cor após o processo.

5.3.2.3 Comportamento reológico

A consistência e a viscosidade do leite fermentado são uns dos principais fatores envolvidos na qualidade e aceitação do produto. Muitos são os fatores que podem afetar a reologia do leite fermentado, como o teor de sólidos, as temperaturas de tratamento térmico do leite e da fermentação, dentre outros (COLLET; TADINI, 2004; PASEEPHOL et al., 2008).

As amostras *iniciais* tiveram maior viscosidade em comparação com a amostra reconstituída (Figura 32.b).

Figura 32 – Curvas de tensão de cisalhamento vs taxa de deformação para o leite fermentado inicial e pó reconstituído (a) e viscosidade aparente vs taxa de cisalhamento para o leite fermentado inicial e pó reconstituído (b).



*Símbolo aberto: microrganismo livre; fechado: microrganismo encapsulado, triângulo: leite fermentado inicial; quadrado: leite fermentado reconstituído. Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

Tabela 12 – Parâmetros reológicos do modelo de Ostwald das amostras antes de secas e dos pós reconstituídos.

Leite fermentado		Parâmetros		
		k (Pa.s)	n	R^2
Inicial	Livre	2,234	0,641	0,998
	Encapsulado	1,300	0,629	0,984
Reconstituído	Livre	0,114	0,447	0,871
	Encapsulado	0,090	0,308	0,858

Fonte: Elaborada pela autora, 2022.

O modelo de Ostwald se ajustou bem aos dados experimentais, apresentando valores de R^2 superiores a 0,98 para o leite fermentado inicial e R^2 superiores a 0,83 para pó reconstituído. O índice de consistência (k) para as amostras LFL e LFE do pó reconstituído, quando comparadas com a inicial, diminuiu, indicando que a amostra reconstituída possui baixa resistência estrutural.

O índice de comportamento de fluxo de $n < 1$ reflete que a estrutura da amostra (inicial e reconstituída) é quebrada pela tensão de cisalhamento aplicada, o que indica que as propriedades das amostras analisadas possui comportamento pseudoplástico (CHAN et al., 2011). O mesmo comportamento foi encontrado em estudo anterior realizado em amostras de iogurte (COSTA, 2017). Monego et al. (2013) estudando a reologia da bebida láctea fermentada, variando a concentração de soro obtiveram viscosidade variando de 0,01- 0,06 Pa.s, observaram que quanto maior a quantidade de soro, menor seria a viscosidade da amostra, valores estes próximos aos obtidos neste trabalho para os pós reconstituído.

6 CONCLUSÕES

Foi possível obter microcápsulas com tamanhos adequados para adição em produtos lácteos, pela técnica de emulsão com alginato de sódio e amido.

Os leites fermentados secos nas temperaturas de 50 °C, 60 °C, 70 °C e 80 °C por *Cast-Tape Drying* permaneceram com viabilidade dos microrganismos probióticos dentro do recomendado de ingestão diária, enquanto na temperatura de 98 °C, foi abaixo do recomendado. O método de emulsão utilizado é adequado para se preparar cápsulas de tamanhos apropriados para adição em produtos alimentícios.

Os pós de leites fermentados probióticos obtidos por CTD-50 e liofilização adicionados na forma livre ou encapsulados, permaneceram estáveis por 180 dias quando armazenados em UR de 26% e 48% a temperatura ambiente. O pó com microrganismo livre e encapsulado obtido por CTD-70 permaneceram com viabilidade por 180 dias em umidade relativa de 26% e 48%, exceto o LFL na UR de 48% que manteve viabilidade de 120 dias.

Não foi possível obtenção de leite fermentado reconstituído com viscosidade semelhante ao natural, sendo necessário adição de materiais que aumentem sua viscosidade durante a secagem.

O uso do CTD para a secagem de produtos termosensíveis em conjunto com o microencapsulamento de probiótico foi possível obter pós de leite fermentado adicionado de microcápsulas probióticas, por no mínimo 6 meses a temperatura ambiente em umidades relativas baixas (26%) e intermediárias (48%). Além disso, os pós com as cápsulas apresentam melhor solubilidade e dispersibilidade quando comparados com os pós adicionados de microrganismos livres.

Portanto, a secagem por CTD é uma alternativa viável para a obtenção de produtos secos probióticos e garantir a viabilidade do produto até o consumo. A temperatura de secagem de 70 °C resulta em tempos de secagem curtos e garante viabilidade dos microrganismos durante o armazenamento sob baixas e moderadas umidades relativas.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A.O.A.C, ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**, 18 ed. Gaithersburg, Maryland, 2005.

ABADÍA-GARCÍA, L. et al. Influence of probiotic strains added to cottage cheese on generation of potentially antioxidant peptides, anti-listerial activity, and survival of probiotic microorganisms in simulated gastrointestinal conditions. **International Dairy Journal**, v. 33, n. 2, p. 191–197, 1 dez. 2013.

ABONYI, B. I. et al. Quality Retention in Strawberry and Carrot Purees Dried with Refractance Window™ System. **Journal of Food Science**, v. 67, n. 3, p. 1051–1056, abr. 2002.

AHMED, J.; RAMASWAMY, H. S. Effect of Temperature on Dynamic Rheology and Colour Degradation Kinetics of Date Paste. **Food and Bioproducts Processing**, v. 83, n. 3, p. 198–202, 2005.

ALE, E. C. et al. Functional properties of exopolysaccharide (EPS) extract from *Lactobacillus fermentum* Lf2 and its impact when combined with *Bifidobacterium animalis* INL1 in yoghurt. **International Dairy Journal**, n. 96, p. 114–125, 2019.

ALLAN-WOJTAS et al. Microstructural studies of probiotic bacteria-loaded alginate microcapsules using standard electron microscopy techniques and anhydrous fixation. **LWT**, n. 41, p. 101–108, 2008.

AL-MUHTASEB, A. H.; MCMINN, W. A. M.; MAGEE, T. R. A. Moisture Sorption Isotherm Characteristics of Food Products: A Review. **Food and Bioproducts Processing**, v. 80, n. 2, p. 118–128, 2002.

ALTERTHUM, F.; CARVALHAL, M.L. (1999) Controle de microrganismos. In: TRABULSI, L.R. et al. **Microbiologia**. 3. ed. São Paulo, Atheneu, p.75-86.

ANGIOLILLO, L. et al. A new method to produce synbiotic Fiordilatte cheese. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 22, p. 180–187, 1 abr. 2014.

ARAGAO, G. M. F. et al. Evaluation of the Weibull and log normal distribution functions as survival models of *Escherichia coli* under isothermal and non isothermal conditions. **International Journal of Food Microbiology**, v. 119, n. 3, p. 243–257, 2007.

ARAGÓN-ROJAS, S. et al. Encapsulation of *Lactobacillus fermentum* K73 by Refractance Window drying. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 5625, 4 dez. 2019.

ARAGÓN-ROJAS, S. et al. Multifunctional Role of the Whey Culture Medium in the Spray Drying Microencapsulation of Lactic Acid Bacteria, **Food Technol Biotechnol**, v. 56, n. 3, 2018.

ARCHER, A. C; HALAMI, P. M. Probiotic attributes of *Lactobacillus fermentum* isolated from human feces and dairy products. **Appl Microbiol Biotechnol**, v. 99, p. 8113–8123.

AYRANCI, E.; DUMAN, O. Moisture sorption isotherms of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) and its protein isolate at 10, 20 and 30°C. **Journal of Food Engineering**, v. 70, n. 1, p. 83–91, 2005.

BAKER, C. G. J. **Industrial Drying of Foods**. Blackie Academic & Professional, 1997.

BARBOSA-CÁNOVAS, G. V et al. **Food powders: physical properties, processing, and functionality**. 1. ed. New York: Springer, 2005. v. 86

BARBOSA-CÁNOVAS, G. V et al. **Water activity in foods: fundamentals and applications**. 1. ed. Iowa: Blackwell Publishing, 2007.

BELITZ, H. D; GROSCH, W. **Química de los alimentos**. 2. ed. Zaragoza: ACRIBIA, 1997.

BENLLOCH-TINOCO, M.; IGUAL, M.; RODRIGO, D.; MARTÍNEZ-NAVARRETE, N. Comparison of microwaves and conventional thermal treatment on enzymes activity and antioxidant capacity of kiwifruit puree. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 19, p. 166-172, 2013.

BHANDARI, B. **Introduction to food powders**. In: Handbook of Food Powders. Philadelphia: Woodhead Publishing, 2013. p. 1–25.

BONOMI, F. et al. Structure–quality relationship in commercial pasta: A molecular glimpse. **Food Chemistry**, v. 135, n. 2, p. 348–355, 2012.

BOSS, E. A. **Modelagem e otimização do processo de liofilização: aplicação para leite desnatado e café solúvel**. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa (MAPA) Nº 46, de 23 de outubro de 2007. Adota o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados, anexo à presente Instrução Normativa. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 23 out. 2007. Seção 1, p. 5, 2007.

BROWN, L. et al. Clinical trials using functional foods provide unique challenges. **Journal of Functional Foods**, v. 45, p. 233–238, 2018.

BRUNAUER, S. et al. On a theory of the van der Waals adsorption of gases. **Journal of the American Chemical Society**, v. 62, n. 7, p. 1723–1732, 1940.

BRUNAUER, S. **The Adsorption of Gases and Vapors**. Physical adsorption, v. 1, 1945.

BUREY, P. et al. Hydrocolloid Gel Particles: Formation, Characterization, and Application. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 48, n. 5, p. 361–377, 8 maio 2008.

CALISKAN KOC, C. et al. Foam mat drying of taro (*Colocasia esculenta*): The effect of ultrasonic pretreatment and drying techniques on the drying behavior, flow, and reconstitution properties of taro flour. **Journal of food process engineering**, v. 43, 2020.

CAPELA, P.; HAY, T. K. C.; SHAH, N. P. Effect of cryoprotectants, prebiotics and microencapsulation on survival of probiotic organisms in yoghurt and freeze-dried yoghurt. **Food Research International**, v. 39, n. 2, p. 203–211, 1 mar. 2006.

CÁRDENAS-PÉREZ, S. et al. Evaluation of the ripening stages of apple (Golden Delicious) by means of computer vision system. **Biosystems Engineering**, v. 159, p. 46–58, 1 jul. 2017.

CHEN, C. et al. Role of lactic acid bacteria on the yogurt flavour: A review. **International Journal of Food Properties**, v. 20, n. sup1, p. S316–S330, 18 dez. 2017.

CHING, S. H.; BANSAL, N.; BHANDARI, B. Alginate gel particles—A review of production techniques and physical properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 6, p. 1133–1152, 13 abr. 2017.

CHUANG, J. J. et al. Effects of pH on the Shape of Alginate Particles and Its Release Behavior. **International Journal of Polymer Science**, v. 2017, p. 1–9, 9 jan. 2017.

COLLET, L. S. F. C. A.; TADINI, C. C. Sodium caseinate addition effect on the thixotropy of stirred yogurt. In: international conference on engineering and food, 9., 2004, Montpellier. **Annals...** Montpellier: ICEF, 2004. p. 317– 322.

CHUA, K. J; CHOU, S. K. Low-cost drying methods for developing countries. **Trends in Food Science & Technology**,

COSTA, J. D. Secagem de iogurte natural por cast-tape sob vácuo. p. 103, 2017. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos

DACANAL, G. C.; MENEGALLI, F. C. Experimental study and optimization of the agglomeration of acerola powder in a conical fluid bed. **Powder Technology**, v. 188, n. 3, p. 187–194, 2009.

DACANAL, G. CESAR. **Estudo da granulação de suco de acerola desidratado em leite fluidizado**. São Paulo: Universidade Estadual de Campinas, 2005.

De MAN, J. C; ROGOSA, M; SHARPE, M. ELISABETH. A medium for the cultivation of lactobacilli. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 23, p. 130.

DITCHFIELD, C. Estudo dos métodos para a medida da atividade de água. Dissertação (mestrado)- Universidade de São Paulo, Escola Politécnica, 2000.

DOHERTY, S. B. et al. Development and characterisation of whey protein micro-beads as potential matrices for probiotic protection. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 6, p. 1604–1617, 1 ago. 2011.

DURIGON, A. et al. Cast-tape drying of tomato juice for the production of powdered tomato. **Food and Bioproducts Processing**, v. 100, p. 145–155, 1 out. 2016.

DURIGON, A. et al. Heat transfer and drying kinetics of tomato pulp processed by cast-tape drying. **Drying Technology**, v. 36, n. 2, p. 160–168, 25 jan. 2018.

ETCHEPARE, M. DE A. et al. Microencapsulation of probiotics using sodium alginate. **Ciência Rural**, v. 45, n. 7, p. 1319–1326, 23 abr. 2015.

FALAH, F. et al. Evaluation of adherence and anti-infective properties of probiotic *Lactobacillus fermentum* strain 4-17 against *Escherichia coli* causing urinary tract infection in humans. **Microbial Pathogenesis**, v. 131, p. 246–253, 1 jun. 2019.

FAO. Food Agriculture and Organization - MaizeFood Agriculture and Organization, 2020. Disponível em: <<http://www.fao.org/land-water/databases-and-software/crop-information/maize/en/>>. Acesso em: 19 de outubro de 2021.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2019. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Acesso em: 19 de outubro de 2021.

FARAHNAKY, A.; ANSARI, S.; MAJZOOBI, M. Effect of glycerol on the moisture sorption isotherms of figs. **Journal of Food Engineering**, v. 93, n. 4, p. 468–473, 1 ago. 2009.

FELLOWS, P. J. **Food processing technology: principles and practice**. 3rd. ed. Washington, DC: Elsevier, 2009.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do Processamento de Alimentos: Princípios e Prática**. 4th. ed. São Paulo: Artmed Editora, 2018.

FENNEMA, O. R.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. **Química de Alimentos de Fennema**. 4ª ed., Porto Alegre: Artmed, 2010.

FORNY, L.; MARABI, A.; PALZER, S. Wetting, disintegration and dissolution of agglomerated water soluble powders. *Powder Technology*, v. 206, n. 1, p. 72–78, 2011.

FOUST, A. S. et al. **Princípios das Operações Unitárias**. 2nd. ed. Rio de Janeiro: LTC/Livros Técnicos e Científicos, 1982.

FRABETTI, A. C. C.; DURIGON, A.; LAURINDO, J. B. Effect of process variables on the drying of guava pulp by cast-tape drying. **Food Science and Technology**, v. 96, p. 620–626, 2018.

FRABETTI, A. C. C.; OLIVEIRA, J. M.; SOUZA, A. P.; SIMÃO, R. S.; LAURINDO, J. B. Strawberry-hydrocolloids dried by continuous cast-tape drying to produce leather and powder. **Food hydrocolloids**, v. 121, p. 107041, 2021.

FRAZIER, W.C.; WESTHOFF, D.C. **Microbiologia de los alimentos**. Editorial Acribia, S.A. 4º edição, 1993. p. 681.

FULLER, R. A Review 2983/0 Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 66, p. 365–378, 1989.

GALDEANO, C. M. et al. Beneficial Effects of Probiotic Consumption on the Immune System. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 74, n. 2, p. 115–124, 1 fev. 2019.

GALLINA, D. A. Leites fermentados funcionais: tendências e inovações. **Revista Ingredientes Tecnologia**, n. 9, p. 26–30, 2010.

GEANKOPLIS, C. J. **Transport Processes and Separation Processes Principles**. 2003.

GEANKOPLIS, C.J. **Transport Processes and Unit Operations**, 3rd Ed., Inc. Prentice Hall, New Jersey. 1993.

GIJSBERS, L. et al. Consumption of dairy foods and diabetes incidence: a dose-response meta-analysis of observational studies. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 103, n. 4, p. 1111–1124, 2016.

GRANATO, D. et al. Probiotic Dairy Products as Functional Foods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 9, n. 5, p. 455–470, 26 ago. 2010.

HABERBECK, L. U. **Modelagem da inativação isotérmica e não isotérmica de bacillus coagulans por tratamento termoquímico utilizando óleo essencial de orégano**. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. 2011.

HAN, M. et al. Use of *Streptococcus thermophilus* for the in situ production of γ -aminobutyric acid-enriched fermented milk. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 1, p. 98–105, 1 jan. 2020.

HASSAN, A. B.; PAWELZIK, E.; VON HOERSTEN, D. Effect of microwave heating on the physiochemical characteristics, colour and pasting properties of corn (*Zea mays* L.) grain. **LWT**, v. 138, 2021.

HAUG, R.T. **The practical handbook of compost engineering**. Boca Raton: Lewis. 717 p. 1993.

LEHRI, B.; SEDDON, A. M.; KARLYSHEV, A. V. *Lactobacillus fermentum* 3872 as a potential tool for combatting *Campylobacter jejuni* infections. **Virulence**, v. 8, n. 8, p. 1753–1760, 2017.

HEIDEBACH, T.; FÖRST, P.; KULOZIK, U. Microencapsulation of Probiotic Cells for Food Applications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 52, n. 4, p. 291–311, abr. 2012.

HOGEKAMP, S.; SCHUBERT, H. Rehydration of Food Powders. **Food Science and Technology International**, v. 9, n. 3, p. 223–235, 2003.

HOLS, P. et al. New insights in the molecular biology and physiology of *Streptococcus thermophilus* revealed by comparative genomics. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 29, n. 3, p. 435–463, 1 ago. 2005.

HUERTAS, R. A. O. Revisión: Microencapsulación de Alimentos. **Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín**, v. 63, n. 2, 2010.

IAL. Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. São Paulo, 2008.

IYER, R.; TOMAR, S. K. Dietary effect of folate-rich fermented milk produced by *Streptococcus thermophilus* strains on hemoglobin level. **Nutrition**, v. 27, n. 10, p. 994–997, 1 out. 2011.

JANGAM, S. V.; MUJUMDAR, A. S. Basic concepts and definitions. In: JANGAM, S. V.; LAW, C. L.; MUJUMDAR, A. S. **Drying of Foods, Vegetables and Fruits**, v. 1, Singapura, p. 1-30, 2010.

JAY, J.M. **Microbiologia moderna de los alimentos**. Editorial Acribia, S.A., 1994.

KAILASAPATHY, K. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. **LWT - Food Science and Technology**, v. 39, n. 10, p. 1221–1227, 1 dez. 2006.

KANDLER, O.; WEISS, N. Genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, 212AL. In P. H. A. Sneath, N. S. Mair, M. E. Sharpe, & J. G. Holt (Eds.), *Bergey's manual of systematic bacteriology* (2nd ed., pp. 1209–1234). Baltimore: Williams and Wilkins. 1986.

KEARNEY, N. et al. Development of a spray dried probiotic yoghurt containing *Lactobacillus paracasei* NFBC 338. **International Dairy Journal**, v. 19, n. 11, p. 684–689, 1 nov. 2009.

KELLER, M. K. et al. Effect of tablets containing probiotic candidate strains on gingival inflammation and composition of the salivary microbiome: a randomised controlled trial. **Beneficial Microbes**, v. 9, n. 3, p. 487–494, 21 dez. 2018.

KHANAL, S. N.; LUCEY, J. A. Effect of fermentation temperature on the properties of exopolysaccharides and the acid gelation behavior for milk fermented by *Streptococcus thermophilus* strains DGCC7785 and St-143. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 5, p. 3799–3811, 1 maio 2018.

KHANAL, S. N.; LUCEY, J. A. Evaluation of the yield, molar mass of exopolysaccharides, and rheological properties of gels formed during fermentation of milk by *Streptococcus thermophilus* strains St-143 and ST-10255y. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 9, p. 6906–6917, 1 set. 2017.

KLAYRAUNGA, S.; VIERNSTEINB, H.; OKONOGIA, S. Development of tablets containing probiotics: Effects of formulation and processing parameters on bacterial viability. **International Journal of Pharmaceutics**, n. 370, p. 54–60, 2009.

KOÇ, B. et al. Physical properties of yoghurt powder produced by spray drying. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 7, p. 1377–1383, 18 jul. 2014.

KOÇ, B. et al. Spray Drying of Yogurt: Optimization of Process Conditions for Improving Viability and Other Quality Attributes. **Drying Technology**, v. 28, p. 495–507, 2010.

KRASAEKOOPT, W.; BHANDARI, B.; DEETH, H. Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. **International Dairy Journal**, v. 13, n. 1, p. 3–13, 1 jan. 2003.

KUDRA, T.; MUJUMDAR, A. S. **Advanced drying technologies**. 2nd. ed. New York: CRC press, 2009.

KULLISSART.; ZILMER, K.; SALUM, T.; REHEMA, A.; ZILMER, M. The use of probiotic *L. fermentum* ME-3 containing Reg'Activ Cholesterol supplement for 4 weeks has a positive influence on blood lipoprotein profiles and inflammatory cytokines: an open-label preliminary study. **Nutrition Journal**, v. 15, n. 93, 2016.

KUMAR, P.; MISHRA, H. N. Yoghurt powder-a review of process technology, storage and utilization. **Food and Bioproducts Processing**, v. 82(C2), p. 133–142, 2004.

LABUZA, T. P.; McNALLY, L.; GALLAGHER, D.; HAWKES, J.; HURTADO, F. Stability of intermediate moisture foods. 1. Lipid oxidation. **Journal of Food Science**, v. 37, p. 154-159, 1972.

LAURIENZO, P. Marine Polysaccharides in Pharmaceutical Applications: An Overview. **Marine Drugs**, v. 8, n. 9, p. 2435–2465, 2 set. 2010.

LAWLESS, H. T; HEYMANN, H. **Sensory evaluation of food: Principles and practices** (2nd.). Berlin: Springer, 2010.

LEE, H.; YOO, B. Agglomerated xanthan gum powder used as a food thickener: Effect of sugar binders on physical, microstructural, and rheological properties. **Powder Technology**, v. 362, p. 301–306, 2020.

LEHRI, B.; SEDDON, A. M.; KARLYSHEV, A. V. Lactobacillus fermentum 3872 as a potential tool for combatting Campylobacter jejuni infections. **Virulence**, v. 8, n. 8, p. 1753–1760, 2017.

LIAO, N. et al. Oligosaccharides as co-encapsulating agents: effect on oral Lactobacillus fermentum survival in a simulated gastrointestinal tract. **Biotechnology Letters**, v. 41, n. 2, p. 263–272, 10 fev. 2019.

LLAVATA, B. et al. Innovative pre-treatments to enhance food drying: a current review. **Current Opinion in Food Science**, v. 35, p. 20–26, 2020.

LOLLO, P. C. B. et al. Ultra-high temperature plus dynamic high pressure processing: An effective combination for potential probiotic fermented milk processing which attenuate exercise-induced immune suppression in Wistar rats. **Journal of Functional Foods**, v. 14, p. 541–548, 1 abr. 2015.

LOURENS-HATTINGH, A.; VILJOEN, B. Yogurt as probiotic carrier food. **International Dairy Journal**. v. 11, n. 1–2, p. 1–17, 2001.

LUCEY, J.A.; SINGH, H. Formation and physical properties of acid milk gels: a review. **Food Research International**, v. 30, n.7, p. 529–542, 1998.

MAÑÉ, J. et al. Lactobacillus fermentum CECT 5716 Prevents and Reverts Intestinal Damage on TNBS-induced Colitis in Mice. **Inflamm Bowel Dis**, v. 15, n. 8, p. 1155–1163.

MARQUES, E. C.; COSTA, S. R. R. DA. Estudo da liofilização pela engenharia de produto no processamento industrial de alimentos. **Acta tecnológica**, v. 10, n. 1, p. 44–52, 2015.

MARTARELLO, R. D. et al. Optimization and partial purification of β galactosidase production by *Aspergillus niger* isolated from Brazilian soils using soybean residue. **AMB Express**, v. 9, n. 81, p. 1-13, 2019.

MARTEAU, P. et al. Survival of Lactic Acid Bacteria in a Dynamic Model of the Stomach and Small Intestine: Validation and the Effects of Bile. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 6, p. 1031–1037, 1 jun. 1997.

MARTIN, M. J. et al. Effect of unmodified starch on viability of alginate-encapsulated *Lactobacillus fermentum* CECT5716. **LWT - Food Science and Technology**, v. 53, n. 2, p. 480–486, 1 out. 2013.

MARTÍN, M. J. et al. Microencapsulation of bacteria: A review of different technologies and their impact on the probiotic effects. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 27, p. 15–25, 1 fev. 2015.

MATOS, C. M. S. et al. **Estudo da estabilidade físico-química e microscópica de iogurte natural liofilizado durante o armazenamento**. Congresso brasileiro de sistema particulado, ENEMP, São Carlos – SP, 2015.

MATTILA-SANDHOLM, T. et al. Technological challenges for future probiotic foods. **International Dairy Journal**, v. 12, n. 2–3, p. 173–182, 1 jan. 2002.

MEDEIROS, A. C. L. et al. Structural characterisation and cell viability of a spray dried probiotic yoghurt produced with goats' milk and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BI-07). **International Dairy Journal**, v. 39, n. 1, p. 71–77, 1 nov. 2014.

MELIN, P. et al. Biological preservation of plant derived animal feed with antifungal microorganisms: Safety and formulation aspects. **Biotechnology Letters**, ago. 2007.

MORAGA, G.; MARTÍNEZ-NAVARRETE, N.; CHIRALT, A. Water sorption isotherms and glass transition in strawberries: influence of pretreatment. **Journal of Food Engineering**, v. 62, n. 4, p. 315–321, 2004.

MORTAZAVIAN, A. M. et al. Viability of calcium-alginate-microencapsulated probiotic bacteria in Iranian yogurt drink (Doogh) during refrigerated storage and under simulated gastrointestinal conditions. **Australian Journal of Dairy Technology**, v. 63, n. 1, p. 25–30, 2008.

MUNIANDY, P.; SHORI, A. B.; BABA, A. S. Comparison of the effect of green, white and black tea on *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus* spp. in yogurt during refrigerated storage. **Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences**, v. 22, p. 26–30, 1 fev. 2017.

NEPA-UNICAMP. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TACO**. 4ª edição revisada e ampliada. Campinas, p. 161, 2011.

NINDO, C. I. et al. Energy consumption during Refractance Window® evaporation of selected berry juices. **International Journal of Energy Research**, v. 28, n. 12, p. 1089–1100, 10 out. 2004.

NINDO, C. I.; TANG, J. Refractance Window Dehydration Technology: A Novel Contact Drying Method. **Drying Technology**, v. 25, n. 1, p. 37–48, 12 fev. 2007.

NUNES, G. L. et al. Inulin, hi-maize, and trehalose as thermal protectants for increasing viability of *Lactobacillus acidophilus* encapsulated by spray drying. **LWT-Food Science and Technology**, v. 89, p. 128–133, 1 mar. 2018.

OLIVEIRA, R. P. S. et al. Effect of different prebiotics on the fermentation kinetics, probiotic survival and fatty acids profiles in nonfat symbiotic fermented milk. **International Journal of Food Microbiology**, v. 128, n. 3, p. 467–472, 15 jan. 2009.

ORDÓÑEZ, J. A. et al. Conservação de alimentos com base na modificação do pH, da atmosfera e da atividade de água. Evaporação e desidratação. In: *Tecnologia de Alimentos: Componentes de Alimentos e Processos*. v. 1. Porto Alegre: Artmed, p. 219-242, 2005.

OIKONOMOPOULOU, V. P.; KROKIDA, M. K.; KARATHANOS, V. T. The influence of freeze drying conditions on microstructural changes of food products. **Procedia Food Science**, v. 1, p. 647 – 654, 2011.

PANDA, S. K. et al. Quality enhancement of prickly pears (*Opuntia* sp.) juice through probiotic fermentation using *Lactobacillus fermentum* - ATCC 9338. **LWT - Food Science and Technology**, v. 75, p. 453–459, 2017.

PARK, K. J.; ANTONIO, G. C.; OLIVEIRA, R. A.; PARK, K. J. B. **Conceitos de processo e equipamentos de secagem**. Campinas: CTEA, 2007.

PARKER, R.; RING, S. G. Aspects of the Physical Chemistry of Starch. **Journal of Cereal Science**, v. 34, n. 1, p. 1–17, 2001.

PASEEPHOL, T.; SMALL, D. M.; SHERKAT, F. Rheology and texture of set yogurt as affected by inulin addition. **Journal of Texture Studies**, Malden, v. 39, n. 6, p. 617-634. 2008.

PAVAN, M. A.; SCHMIDT, S. J.; FENG, H. Water sorption behavior and thermal analysis of freeze-dried, Refractance Window-dried and hot-air dried açai (*Euterpe oleracea* Martius) juice. **LWT - Food Science and Technology**, v. 48, n. 1, p. 75–81, 2012.

PELEG, M. **Advanced Quantitative Microbiology for Foods and Biosystems**. 1st Edition, CRC Press, 2006.

PERRONE, I.T. et al. Crystallization in concentrated whey In: *INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SPRAY DRIED PRODUCTS*, 5., 2012, Saint Malo– França. **Proceedings...** Saint Malo: INRA, 2012. p.41–42.

PINTO, S. S. et al. Effects of the addition of microencapsulated *Bifidobacterium* BB-12 on the properties of frozen yogurt. **Journal of Food Engineering**, n.111, p. 563–569, 2012.

PIORNOS, J. A. et al. Highly efficient encapsulation of linseed oil into alginate/lupin protein beads: Optimization of the emulsion formulation. **Food Hydrocolloids**, v. 63, p. 139–148, 1 fev. 2017.

RAHMAN, M. S.; PERERA, C. O. **Drying and food preservation**. In: *Handbook of food preservation*. 2nd. ed. New York: CRC press, 2007. p. 403–432.

RAO, M. A. **Flow and functional models for rheological properties of fluid foods**. In: *Rheology of Fluid and Semisolid Foods: Principles and Applications*. 2. ed. [s.l.] Springer, 2007. p. 27–58.

RASIC, J. L.; KURMANN, J. A. *Yoghurt: scientific grounds, technology, manufacture and preparations*. **Technical Dairy Pub**, p. 396-411, 1978.

RIBEIRO, M. C. E. Produção e caracterização de iogurte probiótico batido adicionado de *Lactobacillus acidophilus* livre e encapsulado. [s.l.] Universidade Estadual de Campinas, 2011.

- RODRÍGUEZ C.; MEDICI M.; MOZZI F.; DE VALDEZ G. Therapeutic effect of *Streptococcus thermophilus* CRL 1190-fermented milk on chronic gastritis. **World Journal of Gastroenterology**, v. 16, n. 13, p. 1622–1630, 2010.
- ROMANO, N. et al. Physico-chemical and structural properties of crystalline inulin explain the stability of *Lactobacillus plantarum* during spray-drying and storage. **Food Research International**, v. 113, p. 167–174, 1 nov. 2018.
- SAHIN, S.; SUMNU, S. G. Physical properties of foods. New York: Springer, 2006.
- SAKIN-YILMAZER, M. et al. Rheological behavior of reconstituted yoghurt powder—An optimization study. **Powder Technology**, v. 266, p. 433–439, 1 nov. 2014.
- SANTIVARANGKNA, C.; KULOZIK, U.; FOERST, P. Alternative Drying Processes for the Industrial Preservation of Lactic Acid Starter Cultures. **Biotechnology Progress**, v. 23, n. 2, p. 302–315, 9 abr. 2007.
- SANTOS, G. et al. Development and acceptance of freeze-dried yogurt “powder yogurt”. **International Food Research Journal**, v. 25, n. 3, p. 1159–1165, 2018.
- SCHUCK, P. et al. Séchage des lactosérumsetdérivés: rôle du lactose et de la dynamique de l’eau. **Le Lait**, Rennes, v.84, n.3, p.243-268, 2004.
- SCHUCK, P.; DOLIVET, A.; JEANTET, R. Analytical methods for food and dairy powders. **Wiley-Blackwell**, 2012.
- SERNA-COCK, L.; VALLEJO-CASTILLO, V. African Journal of Microbiology Research Probiotic encapsulation. **African Journal of Microbiology Research**, v. 7, n. 40, p. 4743–4753, 2013.
- SESHAMAMBA, V.; BHAVYA, N.; ARVIND, G.; FARZANA, K.; ANUSHA, K. Production of powdered yoghurt by spray drying. **International Journal of Engineering Research & Technology**, v.5, p. 668–678, 2016.
- SHEU, T. Y.; MARSHALL, R. T. Microentrapment of Lactobacilli in Calcium Alginate Gels. **Journal of Food Science**, v. 58, n. 3, p. 557–561, maio 1993.
- SCHAFFNER, D. W.; LABUZA, T. Predictive microbiology: where are we, and where are we going?. **Food technology**, v. 51, n. 4, p. 95–99, 1997.
- SIAMANSOURI, M.; MOZAFFARI, S.; ALIKHANI, F. Bacteriocins and lactic acid bacteria. **Journal of Biology and today’s world**, v. 2, n. 5, p. 227–234.
- SIDIRA, M. et al. Evaluation of immobilized *Lactobacillus plantarum* 2035 on whey protein as adjunct probiotic culture in yoghurt production. **LWT - Food Science and Technology**, v. 75, p. 137–146, 2017.
- SILVA, J. Produção e caracterização de milho verde em pó por cast-tape drying. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina-UFSC. 2021.
- SIMÃO, R. S. et al. Production of mango leathers by cast-tape drying: Product characteristics and sensory evaluation. **LWT**, v. 99, p. 445–452, 2019.

SIMÃO, R. S. et al. Survival Analysis to Predict How Color Influences the Shelf Life of Strawberry Leather. **Foods**, v. 11, p. 218, 2022.

SIMEONI, C. P. et al. Microencapsulação de probióticos: inovação tecnológica na indústria de alimentos. **REGET**, v. 18, p. 66–75, 2014.

SIMPSON, N. E. et al. The role of the CaCl₂–guluronic acid interaction on alginate encapsulated β TC3 cells. **Biomaterials**, v. 25, n. 13, p. 2603–2610, 1 jun. 2004.

SINGH, N.; INOUCHI, N.; NISHINARI, K. Structural, thermal and viscoelastic characteristics of starches separated from normal, sugary and waxy maize. **Food Hydrocolloids**, v. 20, n. 6, p. 923–935, 2006.

SMIDSROD, O.; SKJAK-BRAEK, G. Alginate as immobilization matrix for cells. **Trends in Biotechnology**, v. 8, p. 71–78, 1990.

SOCCOL, C. R.; PANDEY, A.; LARROCHE, C. **Fermentation processes engineering in the food industry**. 1st Edition. CRC Press, 2013.

SOHAIL, A. et al. Survivability of probiotics encapsulated in alginate gel microbeads using a novel impinging aerosols method. **International Journal of Food Microbiology**, v. 145, n. 1, p. 162–168, 31 jan. 2011.

SULTANA, K. et al. Encapsulation of probiotic bacteria with alginate–starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. **International Journal of Food Microbiology**, v. 62, n. 1–2, p. 47–55, 5 dez. 2000.

TAMINE, A. Y.; ROBINSON, R. K. **YOGHURT Science and Technology**. Woodhead Publishing, Cambridge, UK, 1999.

TERPOU, A. et al. Enhanced probiotic viability and aromatic profile of yogurts produced using wheat bran (*Triticum aestivum*) as cell immobilization carrier. **Process Biochemistry**, v. 55, p. 1–10, abr. 2017.

TERPOU, A. et al. Probiotics in Food Systems: Significance and Emerging Strategies Towards Improved Viability and Delivery of Enhanced Beneficial Value. **Nutrients**, v. 11, n. 7, p. 1591, 13 jul. 2019.

THYS, R. C. S. et al. Adsorption isotherms of pinhão (*Araucaria angustifolia* seeds) starch and thermodynamic analysis. **Journal of Food Engineering**, v. 100, n. 3, p. 468–473, 2010.

TOLEDO, R. T. **Fundamentals of Food Process Engineering**. 2nd ed. New York/London: Chapman & Hall, 1991.

TONTUL, I. et al. Physical and microbiological properties of yoghurt powder produced by refractance window drying. **International Dairy Journal**, v. 85, p. 169–176, 1 out. 2018.

URIOT, O. et al. *Streptococcus thermophilus*: From yogurt starter to a new promising probiotic candidate? **Journal of Functional Foods**, v. 37, p. 74–89, 1 out. 2017.

VAN DEN NIEUWBOER, M. et al. Safety of probiotics and synbiotics in children under 18 years of age. **Beneficial Microbes**, v. 6, n. 5, p. 615–630, 2015.

VEGA-SAGARDÍA, M. et al. Encapsulation, with and without oil, of biofilm forming *Lactobacillus fermentum* UCO-979C strain in alginate-xanthan gum and its anti-*Helicobacter pylori* effect. **Journal of Functional Foods**, v. 46, p. 504–513, 1 jul. 2018.

VEGA-MERCADO, H; GÓNGORA-NIETO, M. M; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Advances in dehydration of foods. **Journal of Food Engineering**, v. 49, p. 271-289, 2001.

VISSOTTO, F. Z. et al. Avaliação da influência dos processos de lecitinação e de aglomeração nas propriedades físicas de achocolatado em pó. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 666–671, jul. 2006.

YUKSEL, A. N. Development of yoghurt powder using microwave-assisted foam-mat drying. **Journal of Food Science and Technology**, v. 58, p. 2834–2841, 2021.

ZARTORELLI, M. F. Produção e caracterização de manga desidratada em pó por diferentes processos de secagem. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, 2014.

ZHAO, I. et al. Phylogenetic and comparative genomic analysis of *Lactobacillus fermentum* Strains and the Key Genes Related to their Intestinal Anti-inflammatory Effects. **Engineering**, 2021.

ZHAO, I. et al. *Lactobacillus fermentum* and its potential immunomodulatory properties. **Journal of Functional Foods**, v. 56, p. 21–32, 2019.

ZHENG, J. et al. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 70, n. 4, p.2782–2858, 2020.

ZOTARELLI, M. F. et al. Production of mango powder by spray drying and cast-tape drying. **Powder Technology**, v. 305, p. 447–454, 1 jan. 2017.

ZOTARELLI, M. F.; CARCIOFI, B. A. M.; LAURINDO, J. B. Effect of process variables on the drying rate of mango pulp by **Refractance Window**. **Food Research International**, v. 69, p. 410–417, 1 mar. 2015.

ZOU, S.; ZHANG, X.; YAO, W.; NIU, Y.; GAO, X. Structure characterization and hypoglycemic activity of a polysaccharide isolated from the fruit of *Lycium barbarum* L. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, n. 4, p. 1161–1167, 2010.