



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

**FRANCISCA DIVA LIMA ALMEIDA**

**DESIDRATAÇÃO DE SUCO DE ABACAXI PROBIÓTICO  
POR *SPRAY-DRYER***

FORTALEZA-CE  
2012

**FRANCISCA DIVA LIMA ALMEIDA**

**DESIDRATAÇÃO DE SUCO DE ABACAXI PROBIÓTICO  
POR *SPRAY-DRYER***

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

**Área de Concentração:**

Ciência e Tecnologia de Produtos de Origem Enzimática e Microbiana

**Orientadora:**

Profa. Dra. Sueli Rodrigues

FORTALEZA  
2012

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca de Ciências e Tecnologia

- 
- A444d Almeida, Francisca Diva Lima.  
Desidratação de suco de abacaxi probiótico por spray-dryer / Francisca Diva Lima Almeida. –  
2012.  
70 f. : il. color., enc. ; 30 cm.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias,  
Departamento de Tecnologia de Alimentos, Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos,  
Fortaleza, 2012.  
Área de Concentração: Ciência e tecnologia de produtos de origem enzimática e microbiana.  
Orientação: Profa. Dra. Sueli Rodrigues.  
Coorientação: Prof. Dr. José Maria Correia da Costa.
- 1.Suco de fruta. 2.Lactobacillus casei. 3.Alimento probiótico. I. Título.

# **DESIDRATAÇÃO DE SUCO DE ABACAXI PROBIÓTICO POR *SPRAY-DRYER***

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Aprovada em: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

## **BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sueli Rodrigues (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará

---

Prof<sup>o</sup>. Dr. Marcos Rodrigues Amorim Afonso  
Universidade Federal do Ceará - Membro

---

Dr<sup>a</sup>. Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo  
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Membro

**FORTALEZA**

**2012**

"Consulte não a seus medos, mas a suas esperanças e sonhos.  
Pense não sobre suas frustrações, mas sobre seu potencial não usado.  
Preocupa-se não com o que você tentou e falhou, mas com aquilo que ainda é  
possível a você fazer".

Papa João XXIII

## **DEDICATÓRIA**

*Aos meus pais, José Eudes e Fátima. Foi por eles todo o meu esforço e a eles minha eterna admiração e infinito amor.*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por mais essa conquista, por iluminar sempre meu caminho, colocando na minha vida pessoas tão especiais; por ter me dado forças para enfrentar as dificuldades que surgiram e pelos momentos felizes que me concedeu ao longo dessa jornada. Ele é o responsável por todas as minhas conquistas.

Aos meus pais tão amados, por todo amor, apoio, por confiarem nas minhas decisões, por terem me ensinado, principalmente, a ter responsabilidade em tudo que eu fizesse, por estarem sempre presentes nas horas que preciso. Muito obrigada por tudo!

Às minhas irmãs tão queridas, Cristiane, Clarissa e Ana Virgínia e, também, à minha “prima-irmã” Lillian por todo carinho, amizade, apoio e companheirismo.

À minha orientadora, Sueli Rodrigues, por ter sido “A Orientadora”, por ter me acolhido tão bem, por ter confiado em mim, pelos seus ensinamentos, amizade, paciência, por sempre ter me motivado nos momentos em que tudo parecia dar errado.

Aos meus tios Regina e Alfredo pelo acolhimento e carinho que têm por mim.

Ao Francielle por sempre ter me incentivado a fazer o mestrado, pela sua amizade, carinho e companheirismo. Pelos tantos “puxões de orelha”. Obrigada, porque hoje eu sei que o que você sempre quis foi me ver crescer!

Aos meus queridos amigos do Nutec, em especial ao Jackson, Erika e Raimundo Sales que sempre torceram por mim, pela amizade e momentos tão especiais que juntos vivemos.

Aos meus amigos Ana Lúcia, Virgínia, Gleison e Adalva que acompanharam todo meu trabalho de pertinho, pelos momentos de diversões, pela amizade verdadeira. Em especial à Ana Lúcia, por todo auxílio, por toda ajuda durante todo trabalho.

Ao Eduardo por todo carinho, pelas brincadeiras, por sempre ter ficado na torcida por mim, pelas companhias e conversas durante a escrita da dissertação.

À Erica Milô e Katieli Todisco, pela amizade e auxílio nas secagens.

À minha irmã Clarissa e ao meu amigo Francielle por todos os cuidados e preocupação que tiveram comigo durante o período que estive doente, nos momentos finais de conclusão do mestrado.

A todos do Laboratório de Biotecnologia em especial ao Micael pelas brincadeiras e pela amizade. À Niédila, Rose, Soraya, Rayane, Lívia, Ana Laura, Claudinha, Cris, Imilena, Mariana, Mayra, Tiago, Luís e Jonas.

A todos do Laboratório de Controle de Qualidade e Secagem de Alimentos pela amizade.

A todos os meus colegas de mestrado, pelo carinho e amizade.

Ao professor José Maria pela co-orientação e amizade e, ao prof. Marcos Amorim e à Henriette Azeredo por toda contribuição que foi dada no decorrer de todo trabalho.

Ao secretário Paulo Mendes pela atenção e amizade no decorrer do curso.

A todos os meus amigos e familiares que sempre torceram por mim.

À Funcap pelo suporte financeiro ao longo do curso e ao CNPQ pelo financiamento do projeto através do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Frutos Tropicais.

Meu grande carinho e agradecimento a todos aqueles que, de alguma forma, torceram e contribuíram para a realização deste trabalho.

Obrigada a todos!!



## RESUMO

Pesquisas recentes apontam a utilização de sucos de frutas como excelente meio para veicular micro-organismos probióticos. Diante disso, o objetivo desse trabalho foi desenvolver um novo alimento probiótico de origem não láctea, a partir da desidratação, por *spray dryer*, do suco de abacaxi contendo *Lactobacillus casei* NRRL B-442. Primeiramente, foi realizado um tratamento térmico no suco de abacaxi (90 °C /1minuto) com o objetivo de inativar as proteases presentes no mesmo e avaliar a influência da inativação dessa enzima na sobrevivência do micro-organismo. Posteriormente, foi avaliado o uso de três temperaturas (150, 120 e 100 °C) para a desidratação do suco, a fim de definir uma temperatura adequada com base na sobrevivência do micro-organismo após o processo de desidratação. Outros parâmetros também foram estudados, tais como: o efeito da adição de diferentes materiais (gelatina, goma arábica, maltodextrina), os quais foram empregados como agentes protetores do micro-organismo, bem como a concentração de cada agente utilizada. A viabilidade do *L. casei* antes e após a secagem, os níveis de rendimento e reidratação do pó e a cor do suco reconstituído também foram avaliados. Com base nos resultados obtidos podemos concluir que o uso de temperaturas mais baixas (100°C) e a aplicação de tratamento térmico no suco favoreceram a sobrevivência do *L. casei* após desidratação do suco. O emprego de 10% de gelatina e 5% de goma arábica, como agente de proteção, garantiu excelentes níveis de sobrevivência do micro-organismo após a secagem mostrando, dessa forma, que é possível formular um novo alimento probiótico em pó sem as limitações dos produtos lácteos.

**Palavras-chave:** Abacaxi, probiótico, secagem por atomização

## ABSTRACT

Recent researches show the potential use of fruit juices as an excellent way to carry probiotic microorganisms. Thus, the aim of the following study was to develop a new non-dairy probiotic food from pineapple juice containing *Lactobacillus casei* NRRL B-442 dehydrated by spray-drying process. Firstly, the pineapple juice underwent a heat treatment (90 ° C / 1 minute) in order to inactivate the proteases present in the juice and evaluate the influence of enzyme inactivation on the microorganism survival. Subsequently, the employment of three temperatures (150, 120 and 100 ° C) on the juice dehydration was appraised, with the purpose of defining an appropriate temperature based on the microorganism survival, after the dehydration process. Other parameters were also studied, such as: the effect of addition of different materials (gelatin, gum arabic, maltodextrin), which were used as protective agents for the microorganism, as well as the concentration of each tested adjuvant. Viability of *L. casei* (before and after the drying process), powder yield and rehydration levels and the color of the reconstituted juice were also assessed. Based on the attained results, it can be concluded that the utilization of lower temperatures (100 ° C) and the appliance of heat treatment in the juice favored the survival of *L. casei* after dehydration. Excellent levels of microorganism survival after the drying process were achieved by using 10% gelatin and 5% gum arabic as protective agents, thus showing a promising possibility of formulating a new powder probiotic food without the restrictions inherent in dairy products.

**Keywords:** Pineapple, Probiotic, Spray-drying

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Rendimento e viabilidade do suco probiótico de abacaxi desidratado a 150°C.....	54
<b>Tabela 2</b> - Rendimento e viabilidade do suco probiótico de abacaxi desidratado a 120°C – (Suco sem Tratamento térmico).....	54
<b>Tabela 3</b> - Rendimento e viabilidade do suco probiótico de abacaxi desidratado a 120°C – (Suco com Tratamento térmico). ....	54
<b>Tabela 4</b> - Rendimento e viabilidade do suco probiótico de abacaxi desidratado a 100°C – (Suco sem Tratamento térmico).....	55
<b>Tabela 5</b> - Rendimento e viabilidade do suco probiótico de abacaxi desidratado a 100°C – (Suco com Tratamento térmico). ....	55
<b>Tabela 6</b> - Reidratação dos pós probióticos de abacaxi. ....	56
<b>Tabela 7</b> - Influência das condições de secagem <sup>(1)</sup> na variação da cor do suco de abacaxi probiótico reconstituído em relação ao suco <i>in natura</i> <sup>(2)</sup> .....	58

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Esquema da Secagem por atomização .....	26
<b>Figura 2</b> - Transição vítrea e zona de pegajosidade para componentes amorfos. ....	29
<b>Figura 3</b> - Sistema de elaboração do suco de abacaxi probiótico desidratado .....	35
<b>Figura 4</b> - <i>Spray dryer</i> .....	39
<b>Figura 5</b> - Colônias típicas de <i>Lactobacillus casei</i> em meio MRS.....	40
<b>Figura 6</b> - Atividade enzimática da Protease, Polifenoloxidase e Peroxidase em suco de abacaxi antes e após tratamento térmico e no suco fermentado com <i>L. casei</i> .....	42

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

UFC – Unidade Formadora de Colônias

PPO – Polifenoloxidase

PDO – Peroxidase

MRS – De Man, Rogosa, Sharpe

ABS – Absorbância

Tg – Transição vítrea

Aw – Atividade de água

pH – Potencial hidrogeniônico

PVP - Polivinilpirrolidona

% - Percentual

TT – Tratamento térmico

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	17
2.1 Importância dos Alimentos Funcionais .....	17
2.2 Bactérias Probióticas: aspectos funcionais, tecnológicos e segurança no uso.....	18
2.2.1 Segurança no uso.....	18
2.2.2 Propriedades Funcionais .....	19
2.2.3 Propriedades Tecnológicas .....	20
2.3 Alimentos probióticos .....	21
2.4 Sucos de frutas como matriz alimentícia para veiculação de micro-organismos probióticos .....	23
2.5 Atomização .....	25
2.6 Transição vítrea: processo de aglomeração, higroscopicidade e pegajosidade .....	27
2.7 Agentes carreadores de secagem.....	30
2.8 Alimentos probióticos desidratados .....	31
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	34
3.1 Obtenção do micro-organismo.....	34
3.2 Ativação de Lactobacillus casei B-442 .....	34
3.3 Preparo do Suco Probiótico de Abacaxi .....	34
3.4 Inativação enzimática .....	36
3.5 Determinação da Atividade da Protease.....	36
3.6 Determinação da Atividade da Polifenoloxidase (PPO) e Peroxidase (PDO).....	37
3.7 Secagem do Suco Probiótico de Abacaxi .....	38
3.8 Rendimento do Pó .....	39
3.9 Reconstituição do pó .....	39
3.10 Determinação do Número de Células Viáveis .....	40
3.11 Cor.....	40
3.12 Reidratação do pó.....	41

3.13 Análise estatística .....	41
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	42
4.1 Efeito do tratamento térmico sobre a atividade enzimática do suco de abacaxi. ....	42
4.2 Atividade enzimática da Protease .....	42
4.3 Atividade enzimática da Polifenoloxidase (PPO) e Peroxidase (PDO) .....	43
4.4 Efeito da temperatura de secagem.....	43
4.5 Efeito da inativação enzimática .....	46
4.6 Efeito dos agentes protetores .....	46
4.6.1 Emprego do leite desnatado .....	47
4.6.2 Emprego da gelatina .....	47
4.6.3 Emprego da goma arábica.....	48
4.6.4 Emprego da maltodextrina.....	49
4.6.5 Emprego da sílica .....	50
4.7 Lácteos versus Não-lácteos.....	51
4.8 Rendimento do Pó .....	52
4.9 Reidratação do Pó.....	56
4.10 Cor .....	57
5 CONCLUSÕES .....	61
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	62

## 1 INTRODUÇÃO

A crescente demanda por "alimentos saudáveis" vem estimulando a inovação e o desenvolvimento de novos produtos na indústria de alimentos. Desta forma, a indústria alimentar tem um papel central na promoção de práticas alimentares mais adequadas por meio da oferta e promoção de produtos saudáveis (EL-SALAM et al., 2011). Entre esses alimentos, estão aqueles que podem ser denominados funcionais, por resultarem em benefícios clínicos ou de saúde comprovados, além dos efeitos nutricionais conhecidos (SAAD; CRUZ; FARIA, 2011).

O desenvolvimento de alimentos funcionais pode ser confirmado pelos recentes desenvolvimentos na área de probióticos, prebióticos e simbióticos (ROBERFROID, 2007). Quanto aos probióticos, diversas definições já foram publicadas. Entretanto, a definição atualmente aceita internacionalmente é a de micro-organismos vivos, que quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (FAO/WHO, 2002). Dentre os probióticos mais estudados e amplamente empregados como ingredientes funcionais, destacam-se as bactérias lácticas, particularmente os lactobacilos, e as bifidobactérias.

Nos últimos dez anos, os produtos suplementados com culturas probióticas passaram a assumir um papel de importância no universo científico e muitas pesquisas com probióticos têm sido voltadas aos leites fermentados e iogurtes, produtos probióticos que, atualmente, predominam no comércio mundial (SAAD; CRUZ; FARIA, 2011). Dessa forma, os produtos lácteos têm sido usados tradicionalmente como veículos para as bactérias probióticas em seres humanos. No entanto, com um aumento do vegetarianismo em todos os países desenvolvidos, há também uma crescente demanda por alimentos probióticos de origem não-láctea. Além disso, intolerância à lactose e ao conteúdo de colesterol são dois grandes inconvenientes relacionados aos produtos lácteos fermentados (PRADO; ROMALDE; BARJA, 2010).

A seleção de sistemas adequados de alimentação é um fator fundamental que deve ser considerado no desenvolvimento dos alimentos funcionais probióticos, pois o crescimento e a sobrevivência dos micro-organismos, durante o trânsito gástrico, é afetado pelas propriedades físico-químicas e pelos fatores intrínsecos dos alimentos transportadores (RANADHEERA; BAINES; ADAMS, 2010). Dessa forma, a aplicação de culturas probióticas em alimentos não-lácteos representa um grande desafio.



Nesse contexto, bebidas como sucos de frutas se mostram como um meio excelente para veicular micro-organismos probióticos, uma vez que apresentam nutrientes como vitaminas, minerais e antioxidantes, além de serem consumidos regularmente pela população, sendo este um fator essencial para que os benefícios atribuídos aos probióticos sejam exercidos (SHEEHAN; ROSS; FITZGERALD, 2007).

Bebidas à base de frutas são elaboradas, principalmente, em função da facilidade de consumo e de conservação (SAAD; CRUZ; FARIA, 2011). Diante disso, considerando as tendências atuais por alimentos nutritivos e de rápido preparo, a desidratação de sucos de frutas para utilização em bebidas instantâneas desponta como uma interessante alternativa e grande potencialidade econômica em substituição aos similares artificiais existentes no mercado (OLIVEIRA et al., 2007).

Desta forma, o processo de atomização surge como uma técnica adequada para a obtenção de sucos em pó de alta qualidade, uma vez que seu tratamento térmico é rápido, minimizando a degradação de compostos de sabor e dos antioxidantes, contribuindo assim, para a obtenção de sucos reconstituídos similares aos das correspondentes frutas *in natura* (YOUSEFI; EMAM-DJOMECH; MOUSAVI, 2010).

Os micro-organismos probióticos são sensíveis aos processos de secagem, devido à deterioração do estado fisiológico das células (CHÁVARRI et al., 2010; REDDY; MADHU; PRAPULLA, 2009). Contudo, esse problema pode ser resolvido ou amenizado por meio do uso de uma substância protetora para o micro-organismo, a fim de garantir a viabilidade e estabilidade dos mesmos durante toda a vida útil do produto (ROKKA; RANTAMAKI, 2010).

Nesse contexto, pesquisas são necessárias para avaliar a elaboração de alimentos probióticos na forma desidratada e de origem não-láctea. Diante disso, o objetivo desse trabalho foi desenvolver um novo alimento probiótico, a partir da desidratação, por atomização ou spray-dryer, do suco de abacaxi contendo *Lactobacillus casei*.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Importância dos Alimentos Funcionais

A forte relação entre dieta e saúde é bem aceita atualmente. Embora o principal papel da dieta seja fornecer nutrientes para satisfazer as necessidades metabólicas, o uso de alimentos para melhorar a saúde é uma ideia cada vez mais aceita pela sociedade nas últimas três décadas (FIGUEROA-GONZÁLEZ et al., 2011).

O papel cada vez mais influente da indústria alimentícia sobre a dieta e estilo de vida da população vem acompanhado do desafio de atender a demanda dos consumidores por produtos que sejam saborosos, visualmente atrativos, e que, ao mesmo tempo visem à boa saúde e ao bem-estar (SAAD; CRUZ; FARIA, 2011). Nesse contexto, grandes avanços vêm ocorrendo no desenvolvimento dos alimentos funcionais.

Alimentos funcionais são alimentos ou ingredientes que, além dos nutrientes básicos, contêm compostos fisiologicamente ativos e benéficos à saúde, contribuindo para a redução de doenças crônicas e/ou para a manutenção do bem-estar físico e mental (EL-SALAM et al., 2011; MESTRY; MUJUMDAR; THORAT, 2011; KHALF et al., 2010). Possuem potenciais para promover a saúde através de mecanismos não previstos na nutrição convencional, devendo ser salientado que esse efeito restringe-se à promoção da saúde e não à cura de doenças (ROBERFROID, 2007; KOMATSU et al., 2008).

O conceito de alimentos funcionais foi desenvolvido na década de 1980, no Japão, e ganhou status legal em 1991 e hoje é comumente aceito pela terminologia FOSHU (*Food for Specified Health Use*) (MESTRY; MUJUMDAR. THORAT, 2011; PRADO et al., 2008).

O desenvolvimento de alimentos funcionais pode ser confirmado pelos recentes desenvolvimentos na área de probióticos, prebióticos e simbióticos (ROBERFROID, 2007). No Brasil, os dados sobre o consumo de alimentos funcionais não estão disponíveis. Em 2000, o mercado mundial de alimentos funcionais movimentou 33 bilhões de dólares. Já em 2005, esse total chegou a 73,5 bilhões de dólares (SAAD; CRUZ; FARIA, 2011). Estima-se que ao longo dos próximos cinco anos, as vendas de alimentos funcionais aumentem, com um crescimento de mercado global estimado em 4,5% a 6,5% ao ano. No entanto um maior crescimento vai exigir o desenvolvimento de novos produtos nos diferentes setores de mercado (RESEARCH AND MARKETS, 2011).

## *2.2 Bactérias Probióticas: aspectos funcionais, tecnológicos e segurança no uso*

No contexto dos alimentos funcionais, estão inseridos aqueles que contêm culturas probióticas. Diversas definições sobre probióticos já foram publicadas. No entanto, a definição atualmente aceita internacionalmente, segundo a Organização Mundial da Saúde, é a de micro-organismos vivos, que quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (FAO/ WHO, 2002).

Contudo, o conceito de probióticos e os benefícios à saúde devido à ingestão desses micro-organismos é sabido desde muito tempo. Foi em 1907 que o cientista russo Elie Metchnikoff propôs pela primeira vez o conceito de probióticos. Ele observou que o consumo de grandes quantidades de produtos lácteos fermentados contendo lactobacilos estavam associados a uma vida prolongada de camponeses búlgaros (RANADHEERA; BAINES; ADAMS, 2010; TWETMAN; STECKSÉN-BLICKS, 2008).

Diante disso, os probióticos estão sendo cada vez mais incorporados na alimentação, devido ao crescente volume de evidências científicas que sustentam o conceito de que a manutenção de uma microflora intestinal saudável pode oferecer proteção contra uma série de doenças (KHALF et al., 2010; SHEEHAN; ROSS; FITZGERALD, 2007).

A base teórica para a seleção de microorganismos probióticos inclui aspectos de segurança, funcionais e tecnológicos (FAO/WHO, 2002). Para alcançar um estado de probiótico, os micro-organismos devem cumprir uma série de critérios. Primeiramente, o micro-organismo probiótico não deve ser patogênico; ele deve apresentar boas propriedades tecnológicas, de modo que possa ser fabricado e incorporado em produtos alimentícios sem perder a viabilidade e funcionalidade ou criar sabores e texturas desagradáveis durante o armazenamento dos produtos; devem sobreviver à passagem através do trato gastrointestinal superior e chegar vivos em seu local de ação, devendo ainda ser capazes de funcionar no ambiente intestinal (ROKKA; RANTAMAKI, 2010).

### 2.2.1 Segurança no uso

O surgimento de organismos resistentes a antibióticos é um problema crescente e uma ameaça potencialmente grave para a saúde pública. Por esta razão, o perfil de segurança de uma cepa probiótica é de fundamental importância no processo de seleção. Os testes de segurança para selecionar cepas probióticas devem incluir a determinação da resistência a uma grande variedade de classes comuns de antibióticos, e posterior confirmação de não

transmissão de genes de resistência medicamentosa ou plasmídeos de virulência (VASILJEVIC; SHAH, 2008). Devem ainda não ser patogênicos; apresentar resistência a enzimas digestivas; tolerarem o baixo pH do suco gástrico; resistir à ação da bile e das secreções pancreáticas e intestinais (KUMAR; GHOSH; GANGULI, 2011).

### 2.2.2 Propriedades Funcionais

Atualmente, muito tem se discutido sobre o papel da microbiota intestinal na promoção da saúde humana. Vários estudos têm mostrado que a ingestão regular de probióticos pode assegurar o equilíbrio da microbiota intestinal e, conseqüentemente, a manutenção da saúde. A utilização de culturas bacterianas probióticas estimula a multiplicação de bactérias benéficas, em detrimento à proliferação de bactérias potencialmente prejudiciais, reforçando os mecanismos naturais de defesa do hospedeiro (SAAD; CRUZ; FARIA, 2011).

Três possíveis mecanismos de ação são atribuídos aos probióticos: 1) interação com outros micro-organismos presentes no local de ação (competição por nutrientes, produção de agentes antimicrobianos e exclusão competitiva); 2) reforço da barreira da mucosa; 3) melhoria do sistema imune do hospedeiro, através do aumento dos níveis de anticorpos e o aumento da atividade dos macrófagos (DE VUYST; FALONY; LEROY, 2008).

Existem inúmeros efeitos benéficos atribuídos a uma ingestão regular de micro-organismos probióticos, os quais incluem: equilíbrio da microflora intestinal normal; alívio dos sintomas de intolerância à lactose; modulação do sistema imunológico; alívio da constipação; redução dos níveis de colesterol e hipertensão; prevenção de doenças infecciosas e inflamatórias (GARAI-IBABE et al., 2010; COLBÉRE-GARAPIN et al., 2007; MATSUMOTO; SAKAMOTO; BENNO, 2009; DE VRESE; SCHREZENMEIR, 2008); atividade no controle da *Helicobacter pylori* (GOTTELAND et al., 2008; WANG et al., 2008); atividade anticancerígena (OLIVEIRA, 2009); eliminação de patógenos através da competição por sítios de adesão e nutrientes, pela produção de substâncias bactericidas; melhora dos sintomas de diarreia; aumento da absorção de minerais e vitaminas do complexo B (MINOCHA, 2009).

Diversos estudos têm avaliado o uso de probióticos no tratamento e prevenção de doenças. Gotteland et al. (2008), analisando o efeito do consumo de leite fermentado contendo *Lactobacillus johnsonii*, por crianças portadoras assintomáticas de *H. pylori*, demonstrou que o consumo regular deste produto pode auxiliar no tratamento da doença.

Kumar; Ghosh; Ganguli (2011) examinaram a associação entre o consumo de produtos probióticos de base láctea na gravidez e no desenvolvimento de pré-eclâmpsia e seus subtipos. Os resultados sugeriram que o consumo regular de alimentos probióticos de base láctea pode ser associado com menor risco de pré-eclâmpsia em mulheres primíparas.

Diante disso, a fim de exercer esses efeitos benéficos ao hospedeiro, é necessário manter a viabilidade das cepas probióticas durante o processamento, armazenamento e até o momento do consumo, e que os mesmos sejam capazes de atingir o intestino grosso em quantidade suficiente para facilitar a colonização e proliferação (SHEEHAN; ROSS; FITZGERALD, 2007; SHAH et al., 2010).

As bactérias probióticas só apresentarão efeitos biológicos no ambiente intestinal se atingirem uma quantidade mínima de consumo. Assim, considerando um consumo diário de produtos lácteos de 100 g, estes devem conter, pelo menos, 7,00 log UFC/g de bactérias probióticas *in vivo* no momento da ingestão do produto para ser considerada uma dosagem terapêutica (CHAVARRI et al., 2010; CRUZ et al., 2009; ANTUNES et al., 2007). Na legislação brasileira, é exigido que produtos probióticos, incluindo os iogurtes e leites fermentados, apresentem população mínima de  $10^8$  a  $10^9$  Unidades Formadoras de Colônias (UFC) na recomendação diária do produto pronto para o consumo. Valores menores podem ser aceitos, desde que o fabricante comprove a eficácia do produto (ANVISA, 2008).

### 2.2.3 Propriedades Tecnológicas

Mesmo que uma cepa probiótica preencha os critérios de segurança necessários e os aspectos funcionais, para serem utilizadas na tecnologia de fabricação de produtos alimentícios, as culturas probióticas devem ainda ser empregadas com base em seu desempenho tecnológico (KOMATSU et al., 2008). Estas propriedades tecnológicas incluem uma boa multiplicação na matriz alimentar; devem ser capazes de promover propriedades sensoriais adequadas no produto e permanecer estáveis e viáveis durante o período de armazenamento. Desta forma, podem ser manipuladas e incorporadas em produtos alimentícios sem perder a viabilidade e funcionalidade, resultando em produtos com características sensoriais adequadas (PRADO et al, 2008).

As formas mais comuns de probióticos são aquelas pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* e, em menor quantidade, *Enterococcus* e *Streptococcus*, pois constituem um grupo diversificado de organismos que fornecem benefícios consideráveis para a humanidade, alguns como habitantes naturais do trato intestinal, e outras como bactérias

fermentativas usadas na indústria de alimentos, transmitindo sabor, textura, e por possuírem propriedades conservantes (FLOCH, 2010; RANADHEERA; BAINES; ADAMS, 2010; ROKKA; RANTAMAKI, 2010; GARAI-IBABE et al., 2010; DE VUYST; FALONY; LEROY, 2008; WALDHERR; VOGEL, 2009; WAITZBERG, 2009).

Dentre as bactérias do gênero *Lactobacillus*, podemos destacar as da espécie *Lactobacillus casei*, as quais são bactérias do ácido láctico, geneticamente heterogêneas, capazes de colonizar vários ambientes naturais e artificiais. Cepas do grupo *Lactobacillus casei* têm sido amplamente estudadas com relação às suas propriedades promotoras à saúde. Várias funções benéficas para o organismo humano têm sido atribuídas ao consumo regular de produtos alimentares que contenham essas cepas. As bactérias desse grupo são de grande interesse para a indústria alimentar, uma vez que apresentam a capacidade de melhorar a qualidade dos produtos. Devido a isso, uma série de estudos têm sido realizados para avaliar a viabilidade dessas bactérias como probióticos em produtos lácteos, entre outros produtos alimentares (BURITI; SAAD, 2007).

O número de artigos sobre probióticos aumenta a cada ano, o que demonstra o crescente interesse que os mesmos vêm recebendo na literatura das ciências da saúde. Do ponto de vista científico, é inquestionável que os probióticos constituem um importante campo de investigação e estudo, tendo o aparelho digestivo, mais especificamente a microbiota intestinal, como o ponto principal (SAAD; CRUZ; FARIA, 2011; PRADO et al., 2008).

### 2.3 Alimentos probióticos

Os produtos lácteos são os pioneiros nessa categoria e, atualmente, são considerados como o principal veículo para a liberação de probióticos (RANADHEERA; BAINES; ADAMS, 2010; SANCHEZ et al., 2009; SAXELIN, 2008). Devidos aos benefícios à saúde, os probióticos têm sido incorporados a uma vasta gama de produtos lácteos, incluindo iogurtes, queijos, sorvetes, leite em pó e sobremesas lácteas congeladas (KARACA et al., 2009; HOMAYOUNI et al., 2008; ANAL; SINGH, 2007).

A indústria de laticínios, em particular, encontrou nas culturas probióticas uma ferramenta para o desenvolvimento de novos produtos. Conseqüentemente, inúmeros produtos lácteos probióticos são disponíveis comercialmente e a variedade desses produtos continua em expansão (SAAD; CRUZ; FARIA, 2011; PANESAR, 2011).

Sharp; McMahon; Broadbent (2008) utilizaram *Lactobacillus casei* 334 como modelo de comparação da viabilidade de probióticos em iogurte e em queijo cheddar *light*, durante o armazenamento refrigerado dos produtos. Os autores concluíram que o micro-organismo apresentou boa estabilidade e viabilidade em ambos os produtos estudados (populações de 7,00 Log UFC/g), sendo que não foram observadas mudanças significativas nessas populações após 3 meses e 3 semanas de armazenamento para o queijo e o iogurte, respectivamente.

Jaworska et al. (2011) avaliaram a sobrevivência de duas cepas probióticas (*Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus casei* Bif3'/IV) em lombo de porco para verificar a possibilidade de desenvolvimento de lombo fermentado em relação aos critérios sensoriais e microbiológicos. Os autores concluíram que é possível desenvolver um novo alimento probiótico a partir da fermentação de lombo de porco, uma vez que o alimento apresentou ótima qualidade sensorial e microbiológica, bem como ótima viabilidade de bactérias probióticas (6,00 Log UFC/g) após seis meses de armazenamento do produto.

Donkor et al. (2007) desenvolveram um iogurte de soja, utilizando como base extrato hidrossolúvel de soja enriquecido com inulina (2%) ou pela associação de rafinose (1%) e glicose (1%). Várias combinações de cepas probióticas foram utilizadas para elaboração do novo produto. Os resultados demonstraram que a suplementação do iogurte promoveu um aumento no número de micro-organismos probióticos durante a fermentação e a estocagem (21 dias/ 4°C). A viabilidade celular manteve-se acima de 8,00 Log UFC/ mL de produto.

Magariños et al. (2008) avaliaram a produção de sobremesas lácteas contendo micro-organismos probióticos. Para isso, os autores utilizaram duas cepas probióticas: *Lactobacillus casei* Shirota e *B. animalis* Bb12, com concentrações iniciais de inóculo de 9,17 e de 9,54 Log UFC/g, respectivamente. Os autores observaram que após a diluição do inóculo no produto final, as populações de ambos os micro-organismos reduziram para 8 Log UFC/g, mantendo essa viabilidade durante 14 dias de armazenamento a 5°C.

Em estudos recentes, Kim; Chae e In (2010) avaliaram a produção de purê de pêra fermentado com *Leuconostoc mesenteroides*. Os resultados mostraram que o alimento desenvolvido foi capaz de manter constante a contagem de micro-organismos probióticos em torno de 9 Log UFC/g durante um período de 14 dias.

Finalmente, Possemier et al. (2010) avaliaram o uso do chocolate como um potencial portador de proteção para entrega oral de uma mistura de duas cepas probióticas. Os dados indicaram que o chocolate se mostrou um excelente revestimento para as culturas, protegendo-as contra condições de estresse ambiental.

Estes exemplos são apenas algumas aplicações da potencialidade de micro-organismos probióticos. No entanto, segundo Jaworska et al. (2011), outros veículos, tais como matérias-primas de origem não-láctea, têm sido amplamente estudadas para determinar se são substratos adequados para serem usadas na liberação de bactérias probióticas.

#### *2.4 Sucos de frutas como matriz alimentícia para veiculação de micro-organismos probióticos*

O uso de probióticos tem sido consistentemente associado a alimentos lácteos fermentados, especialmente iogurtes. No entanto, esse tipo de produto pode representar alguns inconvenientes devido à presença de lactose e alto teor de colesterol. Diante dessas limitações, bem como pelo aumento do vegetarianismo e da procura por novos alimentos e sabores, reforça-se a importância de se ampliar o leque de opções de produtos que não sejam de base láctea, como produtos funcionais à base de soja, frutas e derivados, cereais, entre outros (KHALF et al., 2010; RANADHEERA; BAINES; ADAMS, 2010; RÖBLE et al., 2010; RAY; SIVAKUMAR, 2009; SANCHEZ et al., 2009; RENUKA; KULKARNI; PRAPULLA, 2008).

A introdução de culturas probióticas em produtos não-lácteos ainda é um desafio no segmento de alimentos funcionais, pois a viabilidade das bactérias probióticas na matriz alimentícia depende da cepa utilizada, e dos fatores intrínsecos e extrínsecos do próprio alimento (GUERGOLETTTO et al., 2010; RANADHEERA; BAINES; ADAMS, 2010; PRADO et al., 2008).

Dessa forma, foi sugerido que os sucos de frutas representam uma excelente alternativa para a produção de bebidas probióticas (SHAH et al., 2010). Sucos de frutas são tidos como produtos alimentares saudáveis, e são consumidos com frequência por um grande percentual da população. São ricos em componentes funcionais, como vitaminas, fibras, minerais e compostos antioxidantes, como o ácido ascórbico, além de açúcares que estimulam o crescimento do micro-organismo; apresentam ainda perfis de sabor que agradam a todas as faixas etárias. Além disso, o uso de sucos de frutas para o desenvolvimento de alimentos funcionais pode ser uma alternativa nutricional e sensorial atrativa para as pessoas que não querem ou não podem fazer uso de produtos lácteos fermentados (GRANATO et al., 2010; RIVERA-ESPINOZA; NAVARRO, 2010; NAZZARO et al., 2008; DING; SHAH, 2008).

Diante disso, pesquisas recentes nesse sentido vêm sendo realizadas. Pereira et al. (2011) avaliaram a sobrevivência de *L. casei* em suco de caju clarificado durante



armazenamento refrigerado por 42 dias. Os autores relataram que a contagem de células viáveis no suco ao final do período de estocagem foi superior a 8,00 Log UFC/mL, que é considerado um excelente valor para os produtos fermentados contendo probióticos.

Fonteles et al. (2011) avaliaram a produção de suco probiótico de melão cantaloupe fermentado com *Lactobacillus casei*, e a sobrevivência do micro-organismo durante armazenamento refrigerado por 42 dias. Os resultados mostraram que a viabilidade celular após a fermentação foi de 8,30 Log UFC/mL e que ao final dos 42 dias de armazenamento esse nível foi mantido, concluindo que o suco de melão é um veículo adequado para a liberação de culturas probióticas.

Fazeli et al. (2007) elaboraram uma nova bebida probiótica por meio da fermentação do suco de melancia com diferentes cepas de lactobacilos. Os autores relataram que o suco de melancia probiótico apresentou atividade antagonica contra bactérias patogênicas, devido à inibição do crescimento de *Salmonella typhimurium*.

Shah et al. (2010) estudaram a sobrevivência de três diferentes cepas de bactérias probióticas em suco modelo enriquecido com vitaminas e antioxidantes durante um período de 6 semanas. Um suco sem quaisquer aditivos foi usado como controle. Os resultados mostraram que as bactérias não apresentaram boa sobrevivência no suco controle. Por outro lado, o suco contendo extrato de semente de uva, extrato de chá verde e vitamina C tiveram a mesma população inicial de bactérias de 8,32 Log UFC/mL, e ao final do período de armazenamento de seis semanas essa contagem foi de 4,29 Log UFC/mL, 7,41 Log UFC/mL e 6,44 Log UFC/mL, respectivamente, mostrando que o enriquecimento de sucos com certos componentes favorece de forma positiva a sobrevivência de culturas probióticas nesses produtos.

Sheehan; Ross e Fitzgerald (2007), por sua vez, pesquisaram a viabilidade de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* nos sucos de abacaxi, laranja e “cranberry” armazenados a 4°C durante 12 semanas. Os autores observaram que as características do suco de “cranberry” foram incompatíveis com a sobrevivência do micro-organismo. Por outro lado, as linhagens testadas apresentaram resistência ao baixo pH nos sucos de abacaxi e laranja, sendo encontradas em populações da ordem de 7,00 Log UFC/ml e acima de 6,00 Log UFC/ml nos sucos de laranja e abacaxi, respectivamente, durante as 12 semanas de armazenamento. Concluíram, então, que estes probióticos são promissores para suplementação de sucos de frutas.

Costa (2010) observou que o suco de abacaxi sonificado e fermentado por *L. casei* apresentou-se como boa matriz alimentar para a entrega de micro-organismos probióticos.

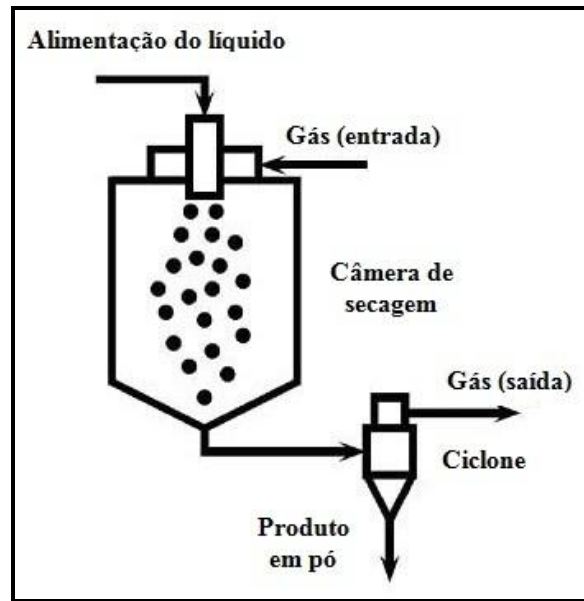
Comparando a viabilidade do *L. casei* em produtos lácteos e não lácteos, Zhou et al. (2009) obtiveram contagens de células viáveis em leite fermentado de  $8,59 \pm 0,04$  log UFC/mL, enquanto Sheehan, Ross e Fitzgerald (2007) reportaram  $8,20 \pm 0,01$  log UFC/mL em suco de abacaxi probiótico, comprovando, dessa forma, a possibilidade de empregar bactérias probióticas em alimentos de base não-láctea. No entanto, a sobrevivência dos probióticos em sucos de frutas é mais complexa que em produtos lácteos, visto que as bactérias lácticas precisam se proteger das condições ácidas destes meios (DONKOR et al., 2007)

Nos últimos anos, a demanda dos consumidores por produtos probióticos de base não-láctea tem aumentado. Com isso, novos estudos devem ser realizados no intuito de conduzir atividades para o desenvolvimento de novos produtos, uma vez que bebidas probióticas à base de frutas vêm se tornando uma categoria de alimento funcional cada vez mais importante (PRADO et al., 2008).

## 2.5 Atomização

A desidratação como uma técnica de preservação é uma alternativa para melhor utilização dos sucos de frutas e hortaliças (MESTRY; MUJUMDAR. THORAT, 2011; ARBALLO; CAMPAÑONE; MASCHERONI, 2010). Atualmente, os alimentos em pó vêm aumentando seu espaço no mercado, visto que esses produtos reduzem os custos de certas operações, tais como embalagem, transporte, armazenamento e conservação, além de agregar valor à matéria-prima, e também por conseguir manter o máximo das características originais do produto natural pelo uso de uma tecnologia de secagem adequada (PARAMITA et al., 2010; KITAMURA, 2009; CHEN; PATEL, 2008; JANGAM et al., 2008; IGNÁRIO; LANNES, 2007; GOULA; ADAMOPOULOS, 2010).

Entre os diferentes métodos de secagem, a atomização (*spray dryer*) é o processo mais comumente usado na indústria alimentícia, para o processamento de líquidos em pó, por ser econômico, flexível e contínuo (YOUSEFI; EMAM-DJOMECH; MOUSAVI, 2010; IGNÁRIO; LANNES, 2007). Neste processo, pequenas gotículas de líquido são rapidamente secas à medida que entram em contato com uma corrente de ar quente no interior de uma câmara de secagem. Dessa forma, embora as gotículas sejam submetidas a temperaturas elevadas, o curto tempo de secagem faz com que a temperatura no interior da gotícula permaneça baixa, conservando assim, as características nutricionais e organolépticas do produto (JAYASUNDERA et al., 2011; ROUSTAPOUR et al., 2009; GAVA, 2009).



**Figura 1** – Esquema da Secagem por atomização

A tecnologia de secagem por *spray drying* é geralmente usada na indústria de alimentos para garantir uma maior estabilidade do produto, além de obter um produto com propriedades específicas, como solubilidade instantânea (PARAMITA et al., 2010; ROUSTAPOUR et al., 2009). É também o principal processo tecnológico aplicado para leite e produtos lácteos, devido ao seu processo econômico, altas taxas de produção e baixos custos operacionais (WIRJANTORO; PHIANMONGKHOL, 2009).

Desta forma, o processo de atomização surge como uma técnica adequada para a obtenção de sucos em pó de alta qualidade, uma vez que seu tratamento térmico é rápido, minimizando a degradação de compostos de sabor e dos antioxidantes, contribuindo assim, para a obtenção de sucos reconstituídos similares aos das correspondentes frutas *in natura* (MESTRY; MUJUMDAR. THORAT, 2011).

No entanto, o controle da deposição de partículas no interior da câmara de secagem é um problema prevalente no processo por atomização (YOUSEFI; EMAM-DJOMECH; MOUSAVI, 2010). Uma vez que os principais constituintes de sucos de frutas são açúcares de baixo peso molecular, tais como sacarose, glicose e frutose, e alguns ácidos orgânicos, estes compostos apresentam alta mobilidade molecular em temperaturas relativamente baixas, o que confere uma natureza pegajosa aos pós obtidos (JAYA; DAS, 2009).

Esse problema de pegajosidade está relacionado à baixa temperatura de transição vítrea que esses tipos de produtos apresentam, com isso, quando são expostos às baixas

temperaturas de secagem, eles estão sujeitos a sofrerem transformações passando de um estado vítreo para um estado gomoso. Com isso, os pós resultantes da secagem apresentarão uma maior interação com a água (aumento da higroscopicidade), maior coesão (entre as partículas em si) e uma maior adesão. Assim, eles podem ficar aderidos nas paredes da câmara do secador durante a secagem, levando a baixos rendimentos e problemas operacionais. No entanto, a adição de materiais de alto peso molecular ao suco pode solucionar esses problemas (TURCHIULI et al., 2010; YOUSEFI; EMAM-DJOMECH; MOUSAVI, 2010; TONON et al., 2009).

Os sistemas biológicos apresentam suas próprias dificuldades porque eles geralmente são termolábeis. Devido a esse fator, grande cuidado deve ser tomado para evitar a desnaturação destes sistemas durante os processos de secagem. Segundo Joshi e Thorat (2011), o processo de desidratação afeta a sobrevivência microbiana pela indução de drásticas perturbações, tais como transição de fase de fosfolipídios e as variações de volume celular. A taxa na qual a água é removida das células é um fator determinante de viabilidade celular.

Portanto, para desidratar bactérias probióticas ou alimentos nos quais essas bactérias estejam inseridas, há um desafio para manter a viabilidade dessas culturas devido às altas temperaturas de processamento encontrada durante o processo (PEIGHAMBARDOUST; GOLSHAN TAFTI; HESARI, 2011; YU et al., 2007).

No entanto, várias abordagens têm sido propostas para superar a inativação microbiana durante a secagem, as quais incluem as condições operacionais de secagem, como temperatura de entrada e saída do ar de secagem, vazão de alimentação do líquido (SANTIVARANGKNA; HIGL; FOERST, 2008-a); a adição de agentes de proteção e o design adequado do secador (WIRJANTORO; PHIANMONGKHOL, 2009).

Desta forma, a secagem por *spray dryer* é, portanto, um método conveniente para a secagem de produtos alimentícios contendo materiais biologicamente ativos, como os probióticos (MESTRY; MUJUMDAR; THORAT, 2011).

## 2.6 Transição vítrea: processo de aglomeração, higroscopicidade e pegajosidade

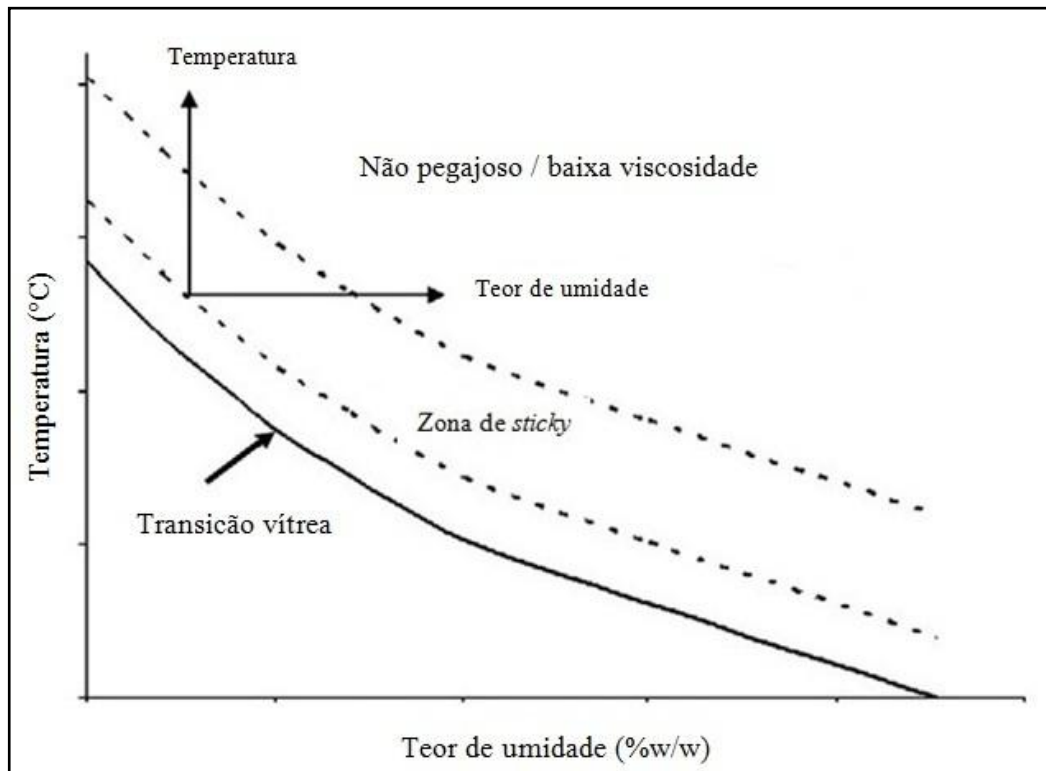
Para as indústrias alimentícias, particularmente aquelas que utilizam processos de conservação por desidratação, um fator de grande interesse é o conhecimento da temperatura de transição vítrea (Tg). Os produtos alimentícios em pó, que contêm carboidratos amorfos, podem passar por mudanças físicas, tais como: cristalização, pegajosidade e compactação

durante o processamento, manipulação e estocagem, e estas mudanças estão diretamente relacionadas à temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) (ROOS, 2010).

A matriz amorfa pode existir como um material vítreo muito viscoso ou como uma estrutura amorfa “gomosa ou borrachuda”, devido ao aumento da mobilidade/ diminuição da viscosidade (JAYA; DAS, 2009; SILALAI; ROOS, 2011). A mudança do estado vítreo para o estado “gomoso” ocorre na temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) que é específica para cada tipo de material e é afetada por três principais fatores: o material plastificante, a massa molecular e a composição do produto (JULIANO, 2010).

De fato, a temperatura de transição vítrea é considerada como uma temperatura de referência: abaixo da  $T_g$ , é esperado que o alimento seja mais estável; acima desta temperatura, a diferença ( $T-T_g$ ) entre  $T_g$  e a temperatura de estocagem  $T$  é responsável por controlar a taxa das mudanças físicas, químicas e biológicas (JULIANO, 2010).

O fenômeno da pegajosidade (*stickiness*) é freqüentemente encontrado durante a produção ou na estocagem de pós desidratados. Em secadores por atomização, este fenômeno pode ser um enorme problema, quando as partículas, que foram insuficientemente secas, colidem com outras ou com a parede do equipamento de secagem, levando a baixos rendimentos do produto, problemas operacionais e dificuldade de manipulação do pó (ROOS, 2010; GOULA; ADAMOPOULOS, 2010; CHEN; PATEL, 2008). Segundo Fitzpatrick et al. (2010), a temperatura do ponto de pegajosidade é cerca de 10-20°C acima da temperatura de início da temperatura de transição vítrea. Assim, a temperatura em que ocorre o *stickiness* pode ser aumentada através do aumento da  $T_g$ .



**Figura 2** - Transição vítrea e zona de pegajosidade para componentes amorfos.

(Fonte: Adaptado de Fitzpatrick et al, 2010)

Diversos estudos voltados para a elaboração de alimentos desidratados apresentam a importância de se determinar a temperatura de transição vítrea dos mesmos, uma vez que o conhecimento da  $T_g$  serve como indicador de estabilidade e qualidade dos produtos (MESTRY; MUJUMDAR; THORAT, 2011; TONON et al., 2009; YOUSEFI; EMAM-DJOMECH; MOUSAVI, 2010).

No caso de alimentos ricos em açúcares, como os sucos de frutas, um dos fatores mais críticos é a baixa temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) desses compostos, o que facilita a absorção de água, promovendo a formação de aglomerados, a dissolução de açúcares amorfos e a recristalização dos mesmos (JULIANO, 2010). Como consequência, há dificuldade na reconstituição e nas condições de escoamento do produto, além de afetar o rendimento e acelerar outras reações deteriorativas que depreciam a qualidade do produto (ENDO et al., 2007).

Devido ao curto tempo de secagem durante a atomização, os solutos como açúcares e ácidos presentes nos alimentos tornam-se compostos amorfos, que é um estado definido pela falta de organização das moléculas, sendo o oposto ao estado cristalino, o qual se caracteriza pelo melhor arranjo da estrutura. Esses compostos amorfos são solúveis em água, que atua

como plastificante, diminuindo a Tg do sistema com o aumento da umidade e da atividade de água ( $A_w$ ) (JAYA; DAS, 2009).

No entanto, a fim de viabilizar o processo de secagem por atomização deste tipo de produto, uma alternativa amplamente utilizada tem sido a adição de aditivos de alto peso molecular no produto antes do mesmo ser submetido ao processo de secagem, de modo a aumentar sua temperatura de transição vítrea (TONON et al., 2009; SHRESTHA et al., 2007), pois além de proteger o núcleo contra degradações químicas, atua como um estabilizante das propriedades físicas do produto, já que evitam a aglomeração dos pós, além de conservar componentes voláteis constituintes do aroma (CHEGINI; GHOBADIAN, 2007).

### *2.7 Agentes carreadores de secagem*

O problema de aderência do pó pode ser evitado através da adição de adjuvantes de secagem, os quais têm a função de aumentar a temperatura de transição vítrea do mesmo, contribuindo na redução da higroscopicidade dos pós, evitando assim a aglomeração das partículas e boa retenção de compostos voláteis (GOULA; ADAMOPOULOS, 2010; YOUSEFI; EMAM-DJOMECH; MOUSAVI, 2010; TONON et al., 2009; CHEGINI; GHOBADIAN, 2007; OLIVEIRA et al., 2007).

Esses materiais podem ser componentes simples ou complexos, como carboidratos (amidos, maltodextrinas, dextranas, sacarose, celulose e derivados), gomas (goma arábica, Agar, carragena, etc.), lipídeos (ceras, parafina, diglicerídeos, etc.), proteínas (glúten, caseínas, gelatinas, albuminas, hemoglobinas e peptídeos) e leite desnatado (BARBOSA, 2010; MESTRY; MUJUMDAR; THORAT, 2011; SANTIVARANGKNA; KULOZIK; FOERST, 2008(b); SUNNY ROBERTS; KNORR, 2009).

Para melhorar as propriedades de manipulação dos pós, agentes anticaking de grau alimentício como, por exemplo, fosfatos, silicatos, dióxido de silício e sais de cálcio, também são somados aos agentes de secagem, uma vez que agentes anticaking agem absorvendo a umidade dos produtos. (JULIANO, 2010; JAYA; DAS, 2009).

A incorporação desses agentes de secagem nos produtos, além de promover um aumento na Tg e reduzir a higroscopicidade dos pós, pode também ser considerada um método para proteger componentes sensíveis dos alimentos durante a secagem, como por exemplo, culturas de bactérias probióticas, uma vez que esses micro-organismos são sensíveis aos processos de secagem, devido à deterioração do estado fisiológico das células

(CHÁVARRI et al., 2010; RANADHEERA; BAINES; ADAMS, 2010; PEIGHAMBARDoust; GOLSHAN TAFTI; HESARI, 2011).

Por isso, a fim de manter a viabilidade desses organismos durante as etapas de processamento dos produtos nos quais estão inseridos, vários parâmetros relacionados à secagem e inativação térmica, bem como as condições de cultivo das culturas, devem ser otimizadas, visando permitir que as células possam se adaptar fisiologicamente ao processo de desidratação dos produtos (PEIGHAMBARDoust; GOLSHAN TAFTI; HESARI, 2011)

A tecnologia de microencapsulação é uma abordagem que recebe grande interesse atualmente, pois surge como uma perspectiva promissora para a introdução de culturas probióticas viáveis em alimentos não-lácteos, pois a matriz protetora da encapsulação age como uma barreira física contra as condições ambientais adversas, às quais os micro-organismos estão expostos (CHÁVARRI et al., 2010; PRADO et al., 2008).

De acordo com Santivarangkna; Kulozik; Foerst (2007), a concentração do agente carreador utilizado pode afetar a sobrevivência de bactérias após a secagem por atomização, pois uma maior quantidade de sólidos resultaria em tamanhos maiores das partículas e, assim, um maior tempo de secagem seria necessário. Assim, os micro-organismos aprisionados nas partículas estariam sujeitos a maiores danos devido ao calor, levando a uma menor viabilidade dessas culturas. Por isso, um estudo detalhado da utilização desses agentes deve ser realizado.

Segundo Peighambardoust; Golshan Tafti; Hesari (2011), a extensão da sobrevivência ou destruição das bactérias probióticas durante o processo de secagem depende, essencialmente, das combinações de tempo e temperatura do processo, bem como da resistência térmica dessas bactérias. A viabilidade residual pode ser aumentada pela redução da temperatura de saída do ar, que é geralmente considerado como o principal parâmetro de transformação que afeta o número de bactérias sobreviventes.

Dessa forma, o uso desses agentes carreadores visa facilitar o processo de secagem, bem como agir como agentes de proteção para o micro-organismo.

## *2.8 Alimentos probióticos desidratados*

Embora os probióticos sejam comumente encontrados em alimentos refrigerados, alguns estudos têm avaliado sua utilização em alimentos desidratados (CHAVÉZ; LEDEBOER, 2007; KEARNEY et al., 2009). No entanto, a maioria desses estudos envolve a utilização dos produtos em pó em base láctea.



Kearney et al. (2009) avaliaram a viabilidade do *Lactobacillus paracasei* NFBC 338 em iogurte submetido ao processo de secagem por *spray dryer*, com temperatura de entrada do ar de  $170\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$  e temperatura de saída variando de  $80\text{-}85\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Os resultados mostraram que houve uma redução do número de células viáveis de 9,00 para 8,00 Log UFC/g, após a secagem do iogurte probiótico. No entanto, este valor se encontra acima do limite mínimo exigido. Os autores concluíram que é possível obter um novo alimento funcional, a partir da desidratação do iogurte probiótico, e ainda conseguir uma alta concentração de células viáveis no produto final.

Wirjantoro e Phianmongkhol (2009) estudaram a sobrevivência de duas culturas probióticas de *L. acidophilus* e *B. bifidum* em iogurte em pó obtido pela secagem por *spray dryer* logo após o processo e durante o período de armazenamento sob diferentes temperaturas e materiais de embalagem (temperatura de entrada do ar de  $180\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$  e temperatura de saída foi de  $80\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$ ). Após o processo de secagem, as taxas de sobrevivência foram de 47,43% e 47,75% para *L. acidophilus* e *B. bifidum*, respectivamente. Após quatro semanas de armazenamento, esses micro-organismos mantiveram 70% de suas taxas de sobrevivência, com exceção do *B. bifidum*. Os autores concluíram que o iogurte em pó pode ser um meio alternativo para a entrega de micro-organismos probióticos.

O desenvolvimento de produtos probióticos na forma desidratada apresenta uma série de vantagens sobre o produto fresco, incluindo uma menor  $A_w$  e, conseqüentemente, maior durabilidade e menores custos de transporte e armazenamento (KEARNEY et al., 2009)

Para a produção de alimentos probióticos em pó, o desafio é dominar a perda de viabilidade do micro-organismo devido à remoção de água, exposição ao oxigênio e, eventualmente, a alta temperatura durante a secagem (JANKOVIC, 2010).

De acordo com Chávez e Ledebøer (2007), uma série de condições deve ser cumprida a fim de proteger as culturas probióticas durante a secagem por *spray dryer* e, assim, alcançar um bom número de células viáveis após o processo. Tais condições incluem:

- Tipo de tensão e tolerância do micro-organismo ao estresse;
- Agente protetor empregado: normalmente proteínas e/ou carboidratos de alto peso molecular;
- Temperatura de secagem: alta temperatura reduz a sobrevivência dos micro-organismos;

- Tempo (de exposição ao calor): como para qualquer tratamento térmico, a mortalidade é proporcional ao tempo de exposição e, portanto, o tempo de aquecimento deve ser o mais curto possível;
- Estresse osmótico, oxidativo e mecânico: devem ser minimizados, e aditivos como antioxidantes podem ser incluídos;
- Transição vítrea: o pó deve permanecer no seu estado vítreo para impedir processos prejudiciais ao micro-organismo;
- Atividade de água ( $A_w$ );
- Condições de estocagem do produto.

Estudos recentes revelam que é possível produzir um novo alimento funcional a partir da desidratação de sucos de frutas contendo micro-organismos probióticos. Mestry; Mujumdar e Thorat (2011) avaliaram a formulação e posterior secagem por *spray dryer* de uma mistura dos sucos de melancia e cenoura fermentado com *Lactobacillus acidophilus* para produzir uma formulação inovadora de alimento probiótico de origem não láctea. Os resultados mostraram que a contagem de células viáveis antes da secagem foi de 9,23 Log UFC/ mL e, após a secagem, essa contagem variou de 7,3-9,13 Log UFC/g.

Diante disso, a elaboração de suco de abacaxi probiótico em pó surge como uma nova tendência para a área de ciência de alimentos, uma vez que fornece tanto uma nova alternativa de alimentos funcionais para a entrega de micro-organismos probióticos aos produtos formulados à base láctea, como fornece também um produto mais estável e com menores custos com embalagem e transporte. Dessa forma, faz-se necessário selecionar as substâncias para proteção do micro-organismo e otimizar os parâmetros de secagem, no intuito de conseguir manter a viabilidade dessas bactérias após o processo de secagem, bem como conseguir um bom rendimento do produto.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Obtenção do micro-organismo

Para obtenção do micro-organismo, uma cultura estoque de *Lactobacillus casei* NRRL B-442 (ARS Culture Collection, Peoria, Illinois, USA) foi mantida congelada a -20°C em caldo De Man, Rogosa e Sharpe (MRS) (HIMEDIA) adicionado de glicerol 50% (v/v).

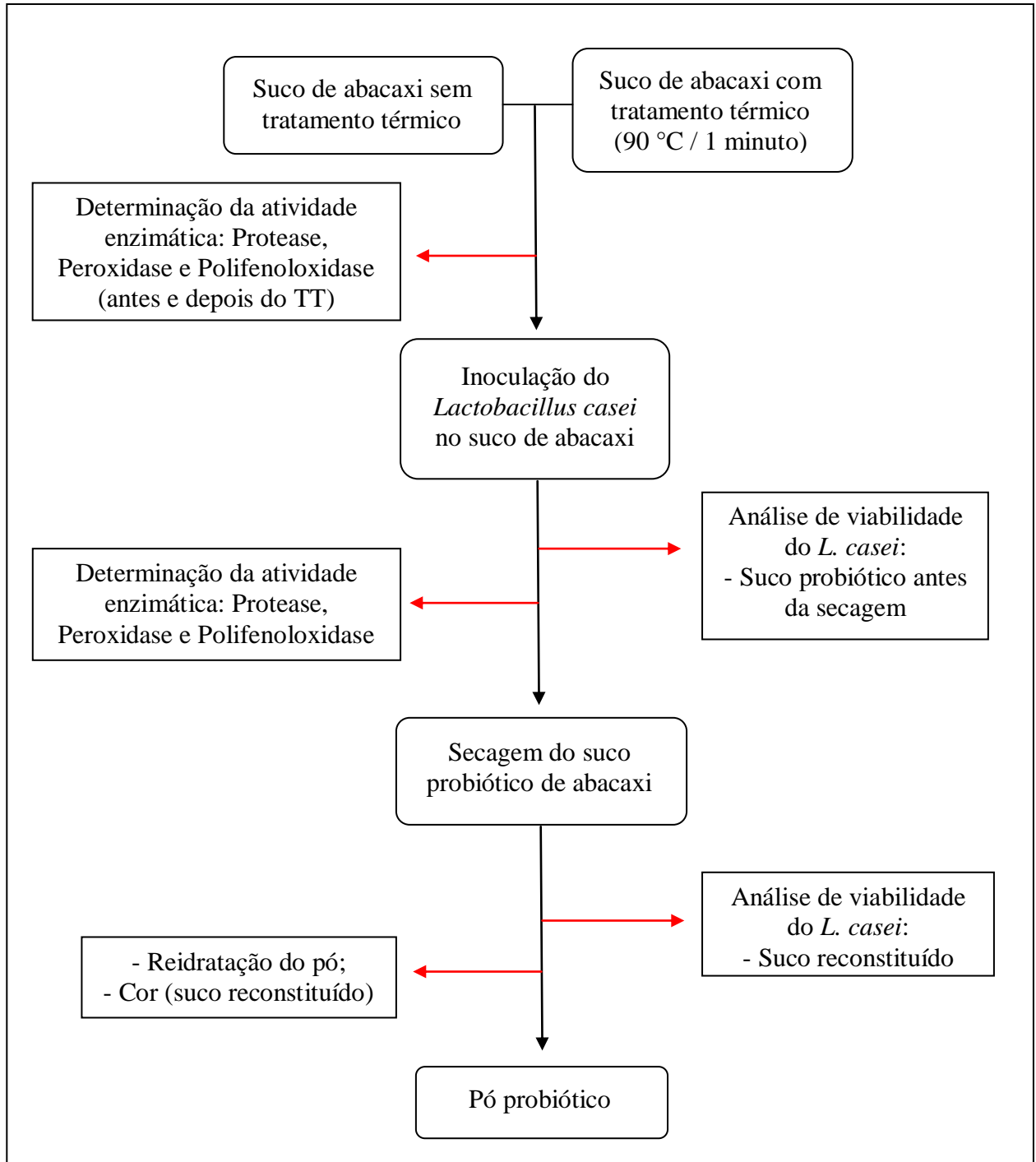
#### 3.2 Ativação de *Lactobacillus casei* B-442

A linhagem estudada foi ativada inoculando-se 8 mL da cultura estoque (congelada a -20°C) em 100 mL de caldo MRS (HIMEDIA) adicionado de 10 mL de tampão fosfato de potássio dibásico 200 mM pH 6,5. A ativação foi conduzida em estufa incubadora B.O.D. estática Marconi®, modelo MA415 a 37°C por tempo suficiente (cerca de 8 horas) para atingir uma concentração de células da ordem de 9,00 Log UFC/mL, equivalente a 0,600 de absorvância a 590nm na escala de McFarland.

#### 3.3 Preparo do Suco Probiótico de Abacaxi

Inicialmente, o suco de abacaxi foi obtido a partir da polpa integral da fruta variedade Pérola (*Ananas comosus* L. Merril), congelada a -8°C (obtida do comércio local de Fortaleza-Ceará e sem adição de conservantes). A formulação do suco consistiu de 100g da polpa em 100 mL de água (1:1). Posteriormente, procedeu-se à fermentação do suco de abacaxi inoculando a cepa de *Lactobacillus casei* NRRL B-442. O suco probiótico de abacaxi foi preparado segundo metodologia descrita por COSTA (2010), na qual para cada 100 mL de suco foi inoculado 1 mL da linhagem ativada em caldo MRS (com concentração de 9 Log UFC/mL de *L. casei*).

A desidratação do suco de abacaxi probiótico foi realizada de acordo com o representado na Figura 3.



**Figura 3** - Sistema de elaboração do suco de abacaxi probiótico desidratado

### 3.4 Inativação enzimática

No intuito de avaliar o efeito da inativação enzimática na sobrevivência do *Lactobacillus casei* após a secagem e reconstituição do pó, o suco de abacaxi *in natura* foi submetido a um tratamento térmico, anteriormente à etapa de fermentação, com o objetivo de inativar as enzimas presentes no mesmo. O tratamento térmico foi realizado conforme Silva (2012), com modificação, no qual consistiu no aquecimento do suco de abacaxi até uma temperatura de 90°C durante 1 minuto. Em seguida, o suco foi submetido a resfriamento rápido, em banho de gelo, até atingir a temperatura ambiente.

### 3.5 Determinação da Atividade da Protease

A atividade enzimática foi determinada no suco de abacaxi antes e após o tratamento térmico, bem como no suco probiótico após a fermentação. A atividade proteolítica foi determinada segundo o método descrito por Charney e Tomarelli (1947). Para isso, 1,0 mL de azocaseína 0,5% em tampão acetato 50 mM, pH 5,0 à 37°C foi adicionado de 1 mL do suco (extrato enzimático). A mistura foi incubada em banho termostaticado a 37°C por 40 minutos. Depois com o intuito de precipitar o substrato não digerido pelas enzimas proteolíticas, adicionou-se 1 mL do ácido tricloroacético 10%. As amostras foram centrifugadas em centrífuga SIGMA (modelo 6K15) a 1610 xg por 15 minutos. Em seguida, transferiu-se 2 mL do sobrenadante contendo aminoácidos e oligopeptídeos de baixo peso molecular para um tubo de ensaio. Adicionou-se 2 mL de KOH 5 M formando um composto com cor característica. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro Spectrum®, modelo SP200UV a 428 nm. Uma unidade (U/mL) de atividade proteolítica foi definida como o correspondente à variação de absorbância de 0,01 unidades por minuto. Foi preparado um branco seguindo o mesmo procedimento mostrado acima. No entanto, após adicionar a amostra na azocaseína, transferiu-se imediatamente 1 mL do ácido tricloroacético para impedir que ocorresse qualquer reação enzimática.

### *3.6 Determinação da Atividade da Polifenoloxidase (PPO) e Peroxidase (PDO)*

Também foram determinadas as atividades das enzimas Polifenoloxidase (PPO) e Peroxidase (PDO) no suco de abacaxi, antes e após o tratamento térmico, e no suco probiótico, para comparar a atividade destas enzimas nos diferentes tratamentos.

O estudo destas duas enzimas foi realizado para avaliação da qualidade do suco, uma vez que são responsáveis pelo escurecimento em frutas, vegetais e seus produtos processados (FREITAS et al., 2008).

#### *Preparo do extrato enzimático*

Para o preparo do extrato enzimático das duas enzimas, adotou-se a metodologia descrita por Wissemann e Lee (1980), com adaptações. No intuito de estabilizar o pH da solução enzimática, para 10 g do suco de abacaxi foi adicionado 10 mL de tampão fosfato de potássio 0,05 M pH 7,0, contendo 1% de PVP (polivinilpirrolidona). A mistura foi centrifugada em centrífuga SIGMA (modelo 6K15) a 10.733 g por 20 minutos à temperatura de 4°C. O sobrenadante constituiu o extrato enzimático.

#### *Polifenoloxidase (PPO)*

A atividade da enzima Polifenoloxidase (PPO) foi determinada segundo o método descrito por Wissemann e Lee (1980), com adaptações. Foi misturado, em tubo de ensaio, 0,3 mL do extrato enzimático e 1,85 mL de tampão fosfato 0,1M (pH 6,0) contendo 0,1M de catecol. Em seguida, as amostras foram incubadas em banho termorregulador a 30°C por 30 minutos. A reação foi interrompida pela adição de 0,8 mL de ácido perclórico 2 M. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro Spectrum®, modelo SP200UV a 395nm, contra um branco que consistiu na substituição do extrato enzimático por água destilada na mistura reativa.

Uma unidade (U) é definida como a quantidade de enzima que causa um aumento de 0,001 unidades de absorbância por minuto. Em seguida, calculou-se a atividade da PPO por minuto por grama.

#### *Peroxidase (PDO)*

A atividade da enzima Peroxidase (PDO) foi determinada segundo o método descrito por Matsuno e Uritani (1972), com adaptações. Foi misturado em tubo de ensaio 1,5 mL do extrato enzimático, 2,75 mL do tampão fosfato-citrato 0,1M pH 5,0 contendo 1% de guaiacol

e 0,25 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%. Em seguida, as amostras foram incubadas em banho termostático a 30°C por 5 minutos. A reação foi interrompida pela adição de 0,5 mL de bissulfito de sódio 30%. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro Spectrum®, modelo SP200UV a 470 nm, contra um branco que consistiu na substituição do extrato enzimático por água destilada na mistura reativa.

Uma unidade (U) é definida como a quantidade de enzima que causa um aumento de 0,001 unidades de absorbância por minuto. Em seguida, calculou-se a atividade da PDO por minuto por grama.

### *3.7 Secagem do Suco Probiótico de Abacaxi*

O suco de abacaxi contendo micro-organismos probióticos foi desidratado em secador por atomização (*spray dryer*), modelo LM MSD 1.0 (Labmaq do Brasil), com câmara de secagem de aço inox, usando bico aspersor de 1,2 mm de diâmetro. Foram fixados os seguintes parâmetros de secagem: temperatura de entrada do ar de secagem (100°C); vazão de alimentação do suco (0,3 L/h); vazão do ar quente (3,0 L/m<sup>3</sup>) e velocidade do ar de secagem (30 L/ m<sup>3</sup>).

Foram empregados os seguintes agentes de secagem e proteção para o micro-organismo: Maltodextrina (Cargill/ Maltogill - DE 20); Gelatina sem cor e sabor (Marca Royal); Goma Arábica; Leite desnatado (utilizado como referência). Também se utilizou o dióxido de silício como agente antiaglomerante.



**Figura 4 - Spray dryer**

### 3.8 Rendimento do Pó

O rendimento do pó, obtido em cada secagem, foi calculado em função do teor de sólidos solúveis no suco, antes da secagem, e tiveram suas médias comparadas pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ), utilizando o programa estatístico Statistica (Statsoft) versão 7.0. O rendimento foi expresso em porcentagem (%) e foi calculado conforme equação abaixo:

$$\text{Rendimento (\%)} = (\text{Peso Pó} \times 100) \times \left[ \frac{100}{(\text{Massa do suco} \times \text{°Brix}_{\text{suco}})} \right]$$

### 3.9 Reconstituição do pó

A reconstituição do pó probiótico de abacaxi foi realizada a partir da dissolução do pó em água na proporção de 1:10. O suco reidratado foi utilizado para as análises de viabilidade após a secagem e cor.



### 3.10 Determinação do Número de Células Viáveis

A análise da viabilidade do *L. casei* foi realizada tanto no suco probiótico de abacaxi pronto para beber, logo antes da secagem, como no suco probiótico desidratado após a secagem e reconstituição do pó, no intuito de avaliar se ocorreram perdas de viabilidade do micro-organismo ao longo do processo. Para isso, foram realizadas diluições seriadas do suco de abacaxi probiótico em água peptonada estéril, até a diluição de  $10^{-6}$ . Alíquotas de 0,1 mL foram inoculadas em meio contendo ágar MRS pelo método ‘*spread plate*’, sendo as placas semeadas em triplicata nas diluições de  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  e  $10^{-6}$ . As placas foram incubadas invertidas a 37°C em B.O.D. por 72 horas. Após esse período, foi realizada a contagem das colônias típicas de *L. casei* que são colônias redondas, cor branco cremoso, com diâmetro de 0,9 a 1,3 mm (SILVEIRA et al., 2010; PEREIRA; MACIEL; RODRIGUES, 2011)



**Figura 5** - Colônias típicas de *Lactobacillus casei* em meio MRS.

### 3.11 Cor

A cor foi avaliada, no suco reconstituído, mediante colorímetro (Minolta CR300, Tokyo) operando no sistema CIE ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ). Sendo  $L^*$  a luminosidade, variando de 0 (preto) para 100 (branco);  $a^*$  a intensidade da cor vermelha, que varia de verde (-60) a vermelho (+60); e  $b^*$  a intensidade da cor amarela, que varia de azul (-60) a amarelo (+60). A calibração do aparelho foi realizada por meio de placa de cerâmica branca, utilizando-se o iluminante D<sub>65</sub> (MINOLTA, 1998).

### *3.12 Reidratação do pó*

A reidratação do pó foi realizada pela adição de 2 g do material em 50 mL de água destilada a 26°C. A mistura, contida num béquer de vidro de 100 mL, foi agitada em agitador Marconi - MA 089, rotação de 800 rpm, utilizando uma barra de agitação magnética. O tempo necessário para o pó ser completamente reidratado foi registrado (Goula; Adamopoulos, 2010).

### *3.13 Análise estatística*

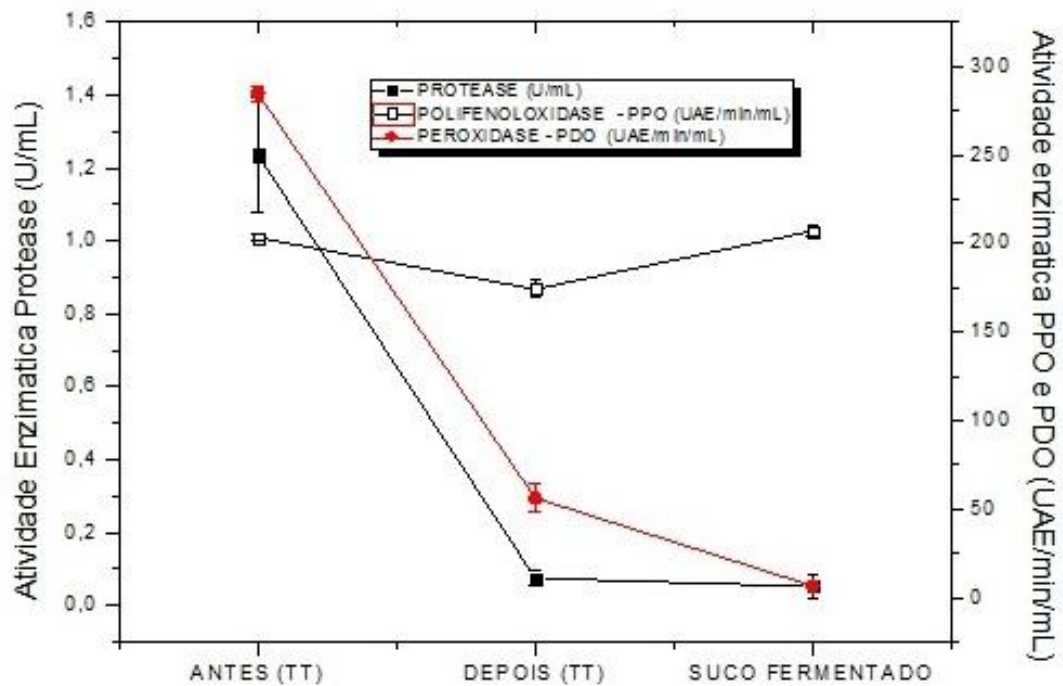
Os resultados obtidos foram submetidos à análise estatística e tiveram suas médias comparadas pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ), utilizando o programa estatístico Statistica (Statsoft) versão 7.0.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Efeito do tratamento térmico sobre a atividade enzimática do suco de abacaxi.

Foi realizada a aplicação de um tratamento térmico no suco de abacaxi (90 °C por 1 minuto), antes da etapa de fermentação do suco, com o objetivo de inativar as enzimas presentes no mesmo e, com isso, verificar se a ausência dessas enzimas influenciaria na sobrevivência do micro-organismo após a desidratação do suco.

A Figura 6 apresenta a atividade enzimática da Protease, PPO e PDO no suco de abacaxi antes e após o tratamento térmico e no suco de abacaxi fermentado com *L. casei*.



**Figura 6** - Atividade enzimática da Protease, Polifenoloxidase e Peroxidase em suco de abacaxi antes e após tratamento térmico e no suco fermentado com *L. casei*

### 4.2 Atividade enzimática da Protease

O tratamento térmico (90°C por 1 minuto) mostrou ser eficiente para inativação da protease, uma vez que seu valor de atividade foi reduzido significativamente ( $p < 0,05$ ) após o tratamento térmico. No suco fermentado, o valor de atividade proteolítica permaneceu constante em relação ao suco após o tratamento, uma vez que não existiu diferença estatística

( $p < 0,05$ ), segundo teste de Tukey, entre os valores de atividade nas duas condições analisadas.

#### 4.3 Atividade enzimática da Polifenoloxidase (PPO) e Peroxidase (PDO)

O tratamento térmico também mostrou ser eficiente para inativação dessas duas enzimas, uma vez que seus valores de atividade foram reduzidos significativamente após o tratamento térmico. A redução da atividade para PDO, após o tratamento térmico, foi bem mais evidente quando comparada com a atividade para PPO, cuja redução foi menor. No suco fermentado, a atividade da PDO foi menor quando comparado ao suco após tratamento térmico, e esses valores diferiram estatisticamente, de acordo com o teste de Tukey.

Por outro lado, a atividade da PPO no suco fermentado foi maior que o valor de atividade no suco após tratamento e foi igual ao valor de atividade no suco antes do mesmo ser submetido ao tratamento térmico. O que pode ter ocorrido é que, como a redução da PPO, após o tratamento térmico, não foi tão drástica, o aquecimento pode ter favorecido mudanças na conformação da enzima e depois ela ter voltado ao seu estado inicial. Segundo Furtunato (2002), as enzimas podem se tornar novamente ativas após a inativação térmica, fenômeno conhecido por renaturação, o qual ocorre com algumas enzimas depois de cessado o agente causador da desnaturação, no caso o tratamento térmico. O mesmo autor ressalta que essa tendência é maior quando o resfriamento que segue o tratamento térmico é lento.

#### 4.4 Efeito da temperatura de secagem

As Tabelas de 1 a 5 apresentam os parâmetros do processo de secagem, bem como os resultados para rendimento do pó, viabilidade do *L. casei* antes e depois da secagem e sobrevivência do micro-organismo.

A secagem do suco de abacaxi contendo bactérias probióticas foi realizada em três temperaturas distintas (150, 120 e 100°C). Nas três temperaturas avaliadas, apenas a temperatura de 100°C foi efetiva em manter a viabilidade do *L. casei*, uma vez que foi a única que favoreceu o crescimento de células viáveis do micro-organismo após a secagem e reconstituição do pó (Tabelas 1, 2, 3, 4 e 5).

Inicialmente, foram realizadas duas secagens do suco de abacaxi probiótico à temperatura de entrada do ar de 150°C (Tabela 1). Nessa temperatura de secagem foi possível obter os melhores valores de rendimento do pó (82% e 60,2%). Quanto à viabilidade do

micro-organismo, o número de células viáveis antes da secagem era de  $9,24 \pm 0,05$  Log UFC/g. No entanto, após a secagem, não houve crescimento de células viáveis do *L. casei*, no suco reconstituído. Provavelmente, o micro-organismo não resistiu ao processo de secagem do suco devido à exposição à alta temperatura.

Segundo estudos realizados por Chávarri et al. (2010), os micro-organismos probióticos são sensíveis aos processos de secagem, devido à deterioração do estado fisiológico das células. De acordo com Rokka e Rantamaki (2010), a resistência térmica e osmótica de bactérias probióticas é dependente da espécie empregada e sua sobrevivência após a secagem também depende do tipo e concentração dos agentes protetores empregados, bem como da temperatura de saída do *spray dryer*.

Partindo dos resultados obtidos com as secagens realizadas a 150°C, foram avaliadas, posteriormente, novas condições de secagem com o suco de abacaxi probiótico não tratado termicamente (Tabela 2) e com o suco submetido a tratamento térmico de 90°C durante 1 minuto (Tabela 3). A temperatura de entrada do ar foi de 120°C e as temperaturas de saída variaram entre 66 e 84°C. De acordo com os resultados obtidos para os cinco ensaios realizados nessas condições, essa temperatura de secagem também não foi favorável à viabilidade do *L. casei*, uma vez que não houve crescimento de células viáveis no suco reconstituído, em ambas as condições. Observou-se também, redução dos rendimentos para todos os ensaios realizados nessa temperatura, quando comparados aos rendimentos obtidos nas secagens a 150 °C.

Segundo Kitamura et al. (2009), durante a secagem de alimentos líquidos, os ingredientes funcionais sensíveis ao calor, tais como vitaminas, enzimas, bactérias são usualmente degradados ou perdidos devido ao contato com o ar quente, entre 120 e 180 °C. Resultados semelhantes foram obtidos por Kearney et al. (2009) ao avaliarem a viabilidade do *Lactobacillus paracasei* NFBC 338 em iogurte submetido ao processo de secagem por *spray dryer*, com temperatura de entrada do ar de 170°C. Esses autores observaram que houve uma diminuição considerável na sobrevivência das cepas probióticas em temperaturas de saída do ar acima de 60°C.

Além disso, Wirjantoro e Phianmongkhol (2009) relataram em seus estudos que uma temperatura de saída do ar de secagem inferior a 60°C não seria eficaz em produzir um pó seco. Por outro lado, temperaturas de saída acima de 90°C iriam produzir um pó com menor qualidade física devido às reações de escurecimento do produto.

Melhores resultados de viabilidade foram alcançados, quando o suco de abacaxi contendo micro-organismos probióticos foi desidratado em temperatura mais baixa, com

100°C para temperatura de entrada do ar e temperatura de saída do ar de aproximadamente de 60°C. Dos 13 ensaios realizados nessa temperatura, apenas 3 ensaios ficaram abaixo do limite mínimo estabelecido para bactérias probióticas em alimentos: 6,00 Log UFC/g. Os sucos que foram submetidos ao tratamento térmico (Tabela 5), antes da inoculação do *L. casei*, apresentaram melhores valores de viabilidade para o micro-organismo após secagem e reconstituição do pó, quando comparados aos sucos que não passaram por tratamento térmico (Tabela 4). Portanto, a inativação enzimática em combinação com o uso de baixas temperaturas de secagem favoreceu a viabilidade do *L. casei* no suco de abacaxi probiótico em pó, após reconstituição do mesmo.

Segundo Santivarangkna; Kulozik; Foerst (2008-b) e Chen e Patel (2007), a extensão da sobrevivência ou destruição das bactérias probióticas durante o processo de secagem depende, essencialmente, das combinações de tempo e temperatura do processo, bem como da resistência térmica dessas bactérias. Alguns autores afirmam ter alcançado uma maior viabilidade residual pela redução da temperatura de saída do ar, que é geralmente considerado como o principal parâmetro de transformação que afetam o número de bactérias sobreviventes.

Reddy; Madhu; Prapulla (2009), investigando o efeito de diferentes agentes de secagem na concentração de células viáveis de micro-organismos probióticos na secagem por atomização, relataram que as temperaturas de entrada e saída do ar de secagem podem ser uma das principais razões pelo dano/ morte celular durante a secagem por atomização.

Riveros (2009), avaliando o efeito dos parâmetros da secagem por spray dryer na viabilidade e conservação das propriedades de bactérias probióticas isoladas da vagina, concluiu que o ajuste dos parâmetros operacionais para alcançar temperaturas de saída próximas ou abaixo de 60°C garantiram a obtenção de um produto com menos de 10% de umidade, bem como a viabilidade e estabilidade dessas bactérias.

Dessa forma, o uso de baixas temperaturas de entrada e, conseqüentemente, baixas temperaturas de saída do ar de secagem favoreceu a viabilidade do *L. casei* no suco probiótico de abacaxi. Por outro lado, quando altas temperaturas foram utilizadas para a secagem do suco probiótico de abacaxi, o micro-organismo não resistiu ao processo, independentemente do suco ter passado anteriormente ou não por tratamento térmico, ou ainda, pelo tipo e quantidade de agente protetor utilizado na secagem.

Esses resultados comprovam o efeito da temperatura de entrada e saída do ar de secagem na sobrevivência do micro-organismo no suco probiótico de abacaxi em pó, uma vez que proporcionou uma maior sobrevivência do mesmo quando baixas temperaturas foram

empregadas. Além disso, a temperatura de 100°C, para a secagem do suco, foi eficaz em produzir um pó com baixo teor de umidade.

#### 4.5 Efeito da inativação enzimática

A inativação da protease também favoreceu a sobrevivência do *L. casei* no suco de abacaxi após a secagem. Dos 13 ensaios realizados na temperatura mais adequada para o crescimento do *L. casei* (100°C, na entrada do *spray dryer*), em 9 deles foi aplicado tratamento térmico no suco de 90°C/ 1 minuto (Tabela 5), antes da inoculação do micro-organismo, com o objetivo de inativação das enzimas, e nos 4 ensaios restantes, o suco não foi submetido a nenhum tipo de tratamento (Tabela 4). Nos 4 ensaios em que o suco de abacaxi não foi tratado termicamente, houve crescimento de colônias típicas de *Lactobacillus casei*, após a secagem, no entanto, somente dois destes ensaios apresentaram os níveis de bactérias probióticas exigidos em alimentos, sendo estes os ensaios 8 (Suco sem tratamento térmico + 10% gelatina) e 9 (Suco sem tratamento térmico + 10% gelatina + 2% sílica).

Já aqueles nove ensaios, nos quais o suco de abacaxi passou inicialmente por tratamento térmico, em todos houve crescimento do *L. casei* após a secagem e reconstituição do suco e, esse crescimento foi em níveis satisfatórios, estando acima dos limites mínimos (6,00 Log UFC/g) para produzir os benefícios terapêuticos, com exceção do ensaio 17, que apresentou número de células viáveis abaixo do mínimo recomendado.

Dessa forma, os resultados apresentados evidenciam que a redução na atividade enzimática da protease no suco de abacaxi melhorou a sobrevivência do *L. casei* após a secagem, evidenciando o efeito da enzima na viabilidade do micro-organismo. Segundo Chanprasartsuk et al. (2010), a atividade de enzimas proteolíticas no abacaxi, caracterizada pela presença da enzima bromelina, pode afetar a viabilidade de micro-organismos, uma vez que as proteases hidrolisam a parede celular microbiana. Sendo assim, esta condição restringe a biodiversidade de micro-organismos capazes de sobreviver neste meio.

#### 4.6 Efeito dos agentes protetores

Para a secagem do suco probiótico de abacaxi foram empregados alguns agentes protetores com o objetivo de evitar a perda da viabilidade do micro-organismo com as condições de secagem empregadas, além de promover, também, um aumento na Tg do suco, reduzindo assim a higroscopicidade dos pós. De acordo com os resultados obtidos, gelatina e

5% de goma arábica foram os agentes protetores efetivos em reduzir as perdas de viabilidade do *L. casei* com a secagem por *spray dryer*.

#### 4.6.1 Emprego do leite desnatado

Dentre os agentes utilizados, o leite desnatado foi empregado como referência de agente protetor para o micro-organismo no suco de abacaxi durante a secagem, uma vez que produtos lácteos, em particular, são considerados como um veículo ideal para bactérias probióticas no trato gastrointestinal humano (RANADHEERA; BAINES; ADAMS, 2010). Segundo Rokka e Rantamaki (2010), o leite desnatado e a lactose, muitas vezes em combinação com proteínas do leite, são amplamente utilizados como agentes protetores para micro-organismos em *spray dryer*.

Quando o suco probiótico de abacaxi foi desidratado adicionando leite desnatado como agente de proteção, valores satisfatórios de viabilidade para *L. casei* foram alcançados após a desidratação do suco, pois antes da secagem a viabilidade era de  $9,37 \pm 0,03$  Log UFC/g passando para  $8,94 \pm 0,04$  Log UFC/g após a secagem.

#### 4.6.2 Emprego da gelatina

Partindo para o emprego de agentes protetores de origem não láctea, quando o suco de abacaxi contendo bactérias probióticas foi desidratado à temperatura de 100°C para o ar de entrada, adicionando gelatina como agente protetor para o micro-organismo, valores satisfatórios de viabilidade do *L. casei* também foram conseguidos após a secagem e reconstituição do pó.

Em todos os ensaios em que a gelatina foi empregada, na temperatura ótima de secagem (100 °C), houve crescimento do micro-organismo, após a desidratação do suco, em níveis acima do mínimo recomendado para probióticos em alimentos. A condição que favoreceu uma menor perda de viabilidade e, conseqüentemente uma melhor sobrevivência do micro-organismo foi quando se empregou 10% de gelatina no suco tratado termicamente (Ensaio 12 – Tabela 5), onde o número de células viáveis foi reduzido de  $9,44 \pm 0,05$  Log UFC/g, antes da secagem, para  $9,12 \pm 0,05$  Log UFC/g após a secagem. Esses valores mostram que a gelatina apresenta grande capacidade protetora para o micro-organismo, uma vez que as perdas de viabilidade foram mínimas após a secagem e comparáveis com as obtidas com o leite.



A gelatina é frequentemente utilizada na indústria alimentícia e farmacêutica, apresenta uma estrutura muito especial e propriedades funcionais versáteis, podendo ser empregada como agente de proteção ou material para microencapsulação de micro-organismo (ROKKA e RANTAMAKI, 2010). De acordo com Burgain et al. (2011), a gelatina tem um efeito protetor sobre probióticos, uma vez que cria um microambiente adequado para a sobrevivência das células contra condições adversas do meio.

#### 4.6.3 Emprego da goma arábica

Nos ensaios 17, 18 e 19 (Tabela 5), a goma arábica foi utilizada como agente de proteção do *L. casei*, variando em cada ensaio, a concentração de goma e uso combinado com outro agente protetor, com o intuito de avaliar sua capacidade protetora na sobrevivência do micro-organismo após a secagem do suco. Segundo Chávez e Ledebøer (2007), a goma arábica é um polissacarídeo que apresenta capacidade de encapsulamento comprovada para proteger materiais sensíveis durante processos de secagem por *spray dryer*.

De acordo com os resultados apresentados (Tabela 5), nos três ensaios em que a goma arábica foi empregada como agente protetor, houve crescimento de colônias típicas de *L. casei* após a secagem e reconstituição do pó. No entanto, no ensaio 17, o nível de bactérias probióticas ficou abaixo do limite mínimo estabelecido. O ensaio 18, por sua vez, favoreceu melhores níveis de sobrevivência do micro-organismos após a desidratação do suco, pois antes da secagem a viabilidade era de  $9,49 \pm 0,06$  Log UFC/g passando para  $9,03 \pm 0,10$  Log UFC/g após a secagem. Por outro lado, no ensaio 17 o número de células viáveis antes da secagem era de  $9,32 \pm 0,05$  Log UFC/g passando para  $5,32 \pm 0,16$  Log UFC/g após a secagem, com redução de quatro ciclos logarítmicos.

Analisando os resultados encontrados para estes dois ensaios (17 e 18), pode-se observar que a concentração de goma arábica empregada para a desidratação do suco influenciou na sobrevivência do *L. casei* após a secagem do suco e reconstituição do pó, pois quando uma menor concentração de goma foi utilizada, melhores níveis de proteção foram alcançados quando comparado ao uso de maiores concentrações de goma, mostrando assim, que uma maior quantidade de agente não está, necessariamente, associada a uma maior proteção.

De acordo com Santivarangkna; Kulozik; Foerst (2007), a concentração do agente carreador utilizado pode afetar a sobrevivência de bactérias após a secagem por atomização, pois uma maior quantidade de sólidos resultaria em tamanhos maiores das partículas. Assim,

os micro-organismos aprisionados nas partículas estariam sujeitos a maiores danos devido ao calor, levando a uma menor viabilidade dessas culturas.

No ensaio 19, a combinação de 5% de goma arábica e 5% de maltodextrina foi melhor quando comparada ao uso de 10% de goma arábica (ensaio 17), uma vez que a combinação desses dois agentes favoreceu uma melhor sobrevivência do micro-organismo. Neste ensaio, a viabilidade antes da secagem foi de  $9,49 \pm 0,02$  Log UFC/g e, após a secagem, esse valor passou para  $7,93 \pm 0,09$  Log UFC/g, estando acima dos limites recomendados para alimentos probióticos.

Em estudos realizados por Hsiao; Lian e Chou (2004), o leite desnatado empregado como agente protetor apresentou melhor proteção ao micro-organismo quando comparado com a gelatina, amido e goma arábica. No entanto, de acordo com os resultados obtidos neste estudo, a viabilidade do *L. casei* no suco de abacaxi tratado termicamente, quando o mesmo foi desidratado usando 10% de gelatina e 5% de goma arábica, foi semelhante quando comparada ao suco desidratado com 10% de leite desnatado, empregado como agente protetor, evidenciando, desta forma, que a gelatina e a goma arábica possuem capacidade de proteção para o micro-organismo semelhante à do leite desnatado, uma vez que a sobrevivência do micro-organismo no suco desidratado com 10% de gelatina foi de 97%, com 5% de goma arábica foi 95% e, com o leite desnatado foi de 95%.

#### 4.6.4 Emprego da maltodextrina

Quanto à maltodextrina, quando aplicada individualmente (ensaio 10 – Tabela 4), esta não apresentou boa proteção para o micro-organismo no suco não tratado termicamente, uma vez que a viabilidade do *L. casei* no suco foi reduzida de  $9,44 \pm 0,05$  Log UFC/g para  $5,85 \pm 0,01$  Log UFC/g após a secagem (redução superior a 3 ciclos logarítmicos). Este valor encontra-se abaixo dos níveis ( $6,00$  Log UFC/g) estabelecidos para que os micro-organismos probióticos exerçam efeitos benéficos.

Por outro lado, quando a maltodextrina foi utilizada no suco submetido a tratamento térmico (ensaio 13 – Tabela 5), houve aumento da viabilidade do micro-organismo probiótico, passando de  $9,19 \pm 0,05$  Log UFC/g, antes da secagem, para  $7,05 \pm 0,01$  Log UFC/g, depois da secagem (redução de 2 ciclos logarítmicos). Esse valor de viabilidade se encontra acima dos níveis mínimos exigidos para bactérias probióticas em alimentos.

A principal função da maltodextrina é agir no fortalecimento da matriz vítrea (CHÁVEZ e LEDEBOER, 2007) e melhorar a estabilidade do pó de frutas com elevado teor

de açúcar, uma vez que reduz problemas de aderência e aglomeração durante a estocagem, além de aumentar a recuperação do pó (JITTANIT; NITI-ATT; TECHANUNTACHAIKUL, 2010).

Os valores de viabilidade do *L. casei* nos ensaios 14 e 15 (ambos desidratados a 100°C e adicionados de 5% de maltodextrina + 1% gelatina e 10% de Maltodextrina e 1% de gelatina, respectivamente) comprovam que é possível reduzir as perdas de viabilidade do micro-organismo, após a secagem do suco tratado termicamente, quando é combinado o uso da maltodextrina com a gelatina, comprovando mais uma vez, a capacidade protetora da gelatina. De acordo com Burgain et al. (2011), a gelatina é uma goma protéica que apresenta capacidade de encapsular bactérias probióticas, isoladamente ou em combinação com outros compostos. Peighambardoust; Golshan Tafti; Hesari (2011) relatou que uma combinação de diferentes agentes protetores podem ser usados para melhorar a sobrevivência de bactérias probióticas desidratadas.

Para esses ensaios, o número de células viáveis antes da secagem foi de  $9,19 \pm 0,05$  Log UFC/g e  $9,37 \pm 0,03$  Log UFC/g, respectivamente, passando para  $8,07 \pm 0,08$  Log UFC/g, no ensaio 14 e  $8,01 \pm 0,01$  Log UFC/g, para o ensaio 15, depois da secagem. Não houve diferença estatística, para os valores de viabilidade em ambos os ensaios, de acordo com teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Nestes ensaios, a gelatina exerceu efeito protetor para o micro-organismo e a maltodextrina melhorou as condições vítreas do suco.

Segundo estudos realizados por Chávez e Ledebøer (2007), combinações de uma fonte protéica com um carboidrato proporcionaram uma matriz compatível com efeito encapsulante para o micro-organismo, melhorando, desta forma, a sobrevivência do mesmo em processos por *spray dryer*.

#### 4.6.5 Emprego da sílica

A sílica foi empregada como agente antiaglomerante, no intuito de melhorar a qualidade do pó obtido. Segundo Juliano (2010), substâncias antiaglomerantes apresentam a capacidade de melhorar as condições de fluxo do pó, reduzindo a coesão e compressibilidade das forças interpartículas, aumentando a densidade do pó. São compostos inertes que agem como barreira física de proteção à umidade quando aplicada à superfície do pó.

No suco não tratado termicamente (ensaio 9), a sílica foi utilizada em combinação com a gelatina, no qual o valor de viabilidade antes da secagem foi de  $9,44 \pm 0,05$  Log UFC/g, passando para  $6,70 \pm 0,10$  Log UFC/g, após a secagem. Por outro lado, quando a sílica foi

empregada em combinação com a maltodextrina (ensaio 11), foram obtidos os seguintes valores de viabilidade: antes da secagem,  $9,44 \pm 0,05$  Log UFC/g e depois da secagem  $5,73 \pm 0,03$  Log UFC/g, sendo que este último valor de viabilidade, após a secagem, ficou abaixo do mínimo estabelecido pela legislação para os níveis de bactérias probióticas em alimentos. Já para o ensaio 16, no qual o suco foi tratado termicamente ( $90^{\circ}\text{C}$  durante 1 minuto), a combinação (sílica + gelatina + maltodextrina) favoreceu a viabilidade do *L. casei*, uma vez que após a secagem o número de células viáveis foi de  $7,74 \pm 0,12$  Log UFC/g, estando esse valor acima do limite mínimo exigido. Este ensaio comprova a importância do tratamento térmico no suco, visto que, após a inativação da protease, a combinação dos três agentes proporcionou uma melhor sobrevivência para o micro-organismo, após a secagem.

#### 4.7 Lácteos versus Não-lácteos

Wirjantoro e Phianmongkhol (2009) estudaram a sobrevivência de duas culturas probióticas em iogurte em pó obtido pela secagem por *spray dryer*, com temperatura de entrada do ar de  $180^{\circ}\text{C} \pm 2$  e temperatura de saída de  $80^{\circ}\text{C} \pm 2$ . Após o processo de secagem, as taxas de sobrevivência foram de 47,43% e 47,75% para *L. acidophilus* e *B. bifidum*, respectivamente. Por outro lado, os melhores níveis de sobrevivência do *L. casei*, no suco de abacaxi probiótico em pó, foram 97% e 95%, quando foi empregada 10% de gelatina e 5% de goma arábica, respectivamente, ou seja, o presente trabalho mostrou melhores níveis de sobrevivência quando comparado ao produto de base láctea.

Kearney et al. (2009) avaliaram a viabilidade do *Lactobacillus paracasei* NFBC 338 em iogurte submetido ao processo de secagem por *spray dryer*, com temperatura de entrada do ar de  $170^{\circ}\text{C} \pm 2$  e temperatura de saída variando de  $80$  a  $85^{\circ}\text{C}$ . Os resultados mostraram que houve uma redução do número de células viáveis de 9,00 para 8,00 Log UFC/g, após a secagem do iogurte probiótico. Já para o suco probiótico de abacaxi, após reconstituição do pó, os valores de viabilidade variaram de 7,05 – 9,12 Log UFC/g e esses resultados foram semelhantes aos encontrados por Mestry; Mujumdar e Thorat (2011) ao avaliarem a formulação e posterior secagem por *spray dryer* de uma mistura dos sucos de melancia e cenoura fermentado com *Lactobacillus acidophilus*, cujos resultados mostraram que a contagem de células viáveis após a secagem e reconstituição do pó variou de 7,3 - 9,13 Log UFC/g.

Esses dados comprovam que é possível produzir um novo produto probiótico em pó, a partir do suco probiótico de abacaxi, uma vez que excelentes níveis de sobrevivência do

micro-organismo foram alcançados e, esses valores foram melhores quando comparados aos produtos probióticos em pó de base láctea.

#### 4.8 Rendimento do Pó

Os valores de rendimento apresentados mostram que nos diferentes parâmetros de secagem, os rendimentos obtidos variaram de 20,81% a 82%. Para todos os ensaios houve redução do rendimento conforme foi reduzida a temperatura de secagem.

A secagem do suco probiótico de abacaxi, numa temperatura de entrada do ar igual a 150°C, apesar de não ter favorecido o crescimento do *L. casei*, apresentou os melhores valores de rendimentos do pó, sendo o melhor resultado alcançado quando o suco foi desidratado com adição de 10% de maltodextrina. A alta temperatura de secagem e o conteúdo de maltodextrina favoreceram a obtenção de um pó menos úmido e pegajoso, reduzindo a deposição do pó na superfície interna da câmara de secagem e facilitando, desta forma, a recuperação do mesmo. Shrestha et al. (2007), indicam que o aumento da quantidade de maltodextrina pode aumentar a recuperação do produto e a leveza do pó em suco de laranja. Menor conteúdo de pó foi obtido quando foi adicionado ao suco 1% gelatina.

Os cinco ensaios realizados à temperatura de 120°C (Tabelas 2 e 3) proporcionaram bons valores de rendimento variando de 41,55% a 54,4%. No entanto, não houve sobrevivência do micro-organismo após as secagens.

Uma maior variação nos valores de rendimento foi obtida quando o suco, contendo bactérias probióticas, foi desidratado na temperatura de 100°C (Tabelas 4 e 5). O melhor rendimento encontrado foi quando o suco foi adicionado de 10% de goma arábica (ensaio 17), obtendo valores de rendimento de 56,91%, seguido dos ensaios 15 (56,72%), 8 (54,56%) e 13 (53,55%), onde no ensaio 15, o suco tratado termicamente foi adicionado de 10% de maltodextrina e 1% de gelatina; no ensaio 8, o suco não tratado termicamente foi adicionado de 10% de gelatina e, no ensaio 13, o suco tratado termicamente foi adicionado de 10% de maltodextrina. Esses três últimos ensaios, além de bons rendimentos obtidos, também favoreceram o crescimento do *L. casei*, após a secagem, em níveis acima do mínimo estabelecido.

Podemos observar que o pó resultante do ensaio 17, que foi o melhor em termos de rendimento, não apresentou crescimento satisfatório do micro-organismo probiótico, uma vez que o número de células viáveis ficou abaixo do recomendado (6,00 Log UFC/g). Por outro lado, o menor rendimento (20,81%) obtido ocorreu na condição de secagem que melhor

favoreceu a sobrevivência do micro-organismo após a desidratação do suco (ensaio 12 - suco tratado termicamente + 10% de gelatina).

Os resultados revelam que a aplicação do tratamento térmico também influenciou no rendimento, uma vez que os valores de rendimento do pó apresentaram diferença estatística ( $p < 0,05$ ) quando as mesmas condições foram avaliadas no suco com e sem tratamento térmico. Nos ensaios 8 e 12, por exemplo, foi adicionado ao suco 10% de gelatina e ambos os ensaios apresentaram rendimentos bem distintos. Isso pode ser justificado pelo fato de que, no ensaio 8, o suco não tratado termicamente continha todas as enzimas naturais do suco de abacaxi, com destaque para a protease bromelina.

Dessa forma, ao adicionar a gelatina ao suco, essas enzimas promoveram a hidrólise das macromoléculas de proteína presente na gelatina, facilitando a dissolução da mesma no suco e, evitando desta forma, a formação de gel, além de facilitar o processo de secagem e recuperação do pó. Isso explica também a baixa viabilidade do *L. casei* após a secagem, uma vez que, sendo a gelatina quebrada pela protease, ela não exercia mais efeito protetor algum para o micro-organismo.

Já no ensaio 12, no suco submetido a tratamento térmico, a não-hidrólise da proteína presente na gelatina levou a um leve processo de geleificação do suco, indicando que as enzimas poderiam estar ausentes ou existir em concentrações relativamente baixas. Essa geleificação dificultou o processo de secagem do suco probiótico, ocorrendo grande deposição do pó no interior da câmara de secagem, o que dificultou a recuperação do mesmo. Entretanto, como não houve a quebra da gelatina, o efeito protetor desta sobre o micro-organismo foi bem evidente. Dessa forma, mesmo com a redução no rendimento, o uso da gelatina é importante no presente estudo, uma vez que melhores níveis de sobrevivência do micro-organismo foram alcançados quando a mesma foi empregada.

A sílica mostrou efeito positivo no rendimento quando foi empregada em combinação com a maltodextrina no suco não tratado termicamente, uma vez que proporcionou uma maior recuperação do pó quando comparado ao emprego isolado da maltodextrina. Por outro lado, apresentou efeito contrário quando foi combinada com a gelatina, também no suco sem tratamento térmico, pois ela ocasionou uma redução no rendimento. Já, quando a sílica foi combinada juntamente com maltodextrina e gelatina, no suco tratado termicamente, o rendimento obtido foi maior quando comparado com os dois ensaios comentados acima.

**Tabela 1** - Rendimento e viabilidade do suco probiótico de abacaxi desidratado a 150°C.

Ensaio	Temperatura do ar Entrada / Saída	Suco Probiótico + Agente encapsulante	Rendimento (%)	Viabilidade Log UFC/g (antes secagem)	Viabilidade Log UFC/g (após secagem)	Sobrevivência (%)
1	150°C /90°C	Suco sem TT + 10% Maltodextrina	82,00	9,24 ± 0,08	< 1/diluição	0
2	150°C /66°C	Suco sem TT + 1% Gelatina	60,20	9,24 ± 0,08	< 1/diluição	0

As Tabelas 2 e 3 apresentam os resultados de rendimento e viabilidade para as secagens realizadas a 120 °C

**Tabela 2** - Rendimento e viabilidade do suco probiótico de abacaxi desidratado a 120°C – (Suco sem Tratamento térmico).

Ensaio	Temperatura do ar Entrada / Saída	Suco Probiótico + Agente encapsulante	Rendimento (%)	Viabilidade Log UFC/g (antes secagem)	Viabilidade Log UFC/g (após secagem)	Sobrevivência (%)
3	120°C / 84°C	1% Gelatina/5% Maltodextrina/2% Silica	52,00	8,97 ± 0,05	< 1/diluição	0
4	120°C / 83°C	1% Gelatina/ 5% Maltodextrina	41,55	8,98 ± 0,10	< 1/diluição	0
5	120°C / 76°C	10% Gelatina	45,78	8,98 ± 0,10	< 1/diluição	0

**Tabela 3** - Rendimento e viabilidade do suco probiótico de abacaxi desidratado a 120°C – (Suco com Tratamento térmico).

Ensaio	Temperatura do ar Entrada / Saída	Suco Probiótico + Agente encapsulante	Rendimento (%)	Viabilidade Log UFC/g (antes secagem)	Viabilidade Log UFC/g (após secagem)	Sobrevivência (%)
6	120°C / 66°C	15% Maltodextrina	54,4	9,51 ± 0,05	< 1/diluição	0
7	120°C / 74°C	15% Maltodextrina + 1% Gelatina	33,85	9,51 ± 0,05	< 1/diluição	0

As Tabelas 4 e 5 apresentam os resultados de rendimento e viabilidade para as secagens realizadas a 100 °C

**Tabela 4** - Rendimento e viabilidade do suco probiótico de abacaxi desidratado a 100°C (Suco sem Tratamento térmico).

Ensaio	Temperatura do ar Entrada / Saída	Suco Probiótico + Agente encapsulante	Rendimento (%)	Viabilidade Log UFC/g (antes secagem)	Viabilidade Log UFC/g (após secagem)	Sobrevivência a (%)
8	100°C / 60°C	10% Gelatina	54,56	8,98 ± 0,10	7,67 ± 0,14	85,0
9	100°C / 45°C	10% Gelatina + 2% Silica	41,78	9,44 ± 0,05	6,70 ± 0,10	71,0
10	100°C / 52°C	10% Maltodextrina	24,9	9,44 ± 0,05	5,85 ± 0,01	62,0
11	100°C / 50°C	10% Maltodextrina + 2% Silica	29,54	9,44 ± 0,05	5,73 ± 0,03	61,0

**Tabela 5** - Rendimento e viabilidade do suco probiótico de abacaxi desidratado a 100°C – (Suco com Tratamento térmico).

Ensaio	Temperatura do ar Entrada / Saída	Suco Probiótico + Agente encapsulante	Rendimento (%)	Viabilidade Log UFC/g (antes secagem)	Viabilidade Log UFC/g (após secagem)	Sobrevivência (%)
12	100°C / 60°C	10% Gelatina	20,81	9,44 ± 0,05	9,12 ± 0,05	97,0
13	100°C / 60°C	10% Maltodextrina	53,55	9,19 ± 0,05	7,05 ± 0,01	77,0
14	100°C / 60°C	1% Gelatina + 5% Maltodextrina	46,2	9,19 ± 0,05	8,07 ± 0,08	88,0
15	100°C / 60°C	10% Maltodextrina + 1% Gelatina	56,72	9,37 ± 0,03	8,01 ± 0,01	85,0
16	100°C / 60°C	10% Maltodextrina + 1% Gelatina + 2% Silica	49,14	9,37 ± 0,03	7,74 ± 0,12	83,0
17	100°C / 58°C	10% Goma Arábica	56,91	9,32 ± 0,05	5,32 ± 0,16	57,0
18	100°C / 56°C	5% Goma Arábica	40,34	9,49 ± 0,06	9,03 ± 0,10	95,0
19	100°C / 55°C	5% Goma Arábica + 5% Maltodextrina	35,40	9,49 ± 0,02	7,93 ± 0,09	84,0
20	100°C / 60°C	10% Leite desnatado (Referência)	43,47	9,37 ± 0,03	8,94 ± 0,04	95,0



#### 4.9 Reidratação do Pó

A análise de reidratação do pó de abacaxi probiótico foi realizada nos ensaios em que o suco foi submetido primeiramente ao tratamento térmico e nas condições de secagem que favoreceram o crescimento do *Lactobacillus casei*, com exceção para o ensaio 12, uma vez que a quantidade de pó que foi obtido neste ensaio não foi suficiente para a realização dessa análise. Também foi analisada a reidratação de dois pós que foram desidratados à temperatura de 120°C, para verificar a influência da temperatura de secagem sobre a capacidade de reidratação do pó obtido sob diferentes temperaturas. Os resultados de reidratação dos pós estão apresentados na tabela 6.

**Tabela 6** – Reidratação dos pós probióticos de abacaxi.

Ensaio	Temperatura do ar Entrada / Saída	Suco Probiótico + Agente encapsulante	Reidratação (segundos)
6	120°C / 66°C	Suco com TT + 15% Maltodextrina	107 ± 0,02
7	120°C / 74°C	Suco com TT + 15% Maltodextrina + 1% Gelatina	322 ± 0,09
13	100°C / 60°C	Suco com TT + 10% Maltodextrina	149 ± 0,08
14	100°C / 60°C	Suco com TT + 5% Maltodextrina + 1% Gelatina	320 ± 0,67
15	100°C / 60°C	Suco com TT + 10% Maltodextrina + 1% Gelatina	389 ± 0,04
16	100°C / 60°C	Suco com TT + 10% Maltodextrina + 1% Gelatina + 2% Silica	395 ± 0,02
17	100°C / 58°C	Suco com TT + 10% Goma Arábica	611 ± 0,10
18	100°C / 56°C	Suco com TT + 5% Goma Arábica	466 ± 0,05
19	100°C / 55°C	Suco com TT + 5% Goma Arábica + 5% Maltodextrina	329 ± 0,03
20	100°C / 60°C	Suco com TT + 10% Leite desnatado (Referência)	235 ± 0,04

De acordo com os valores apresentados, os resultados sugerem que a temperatura do ar de secagem influenciou na capacidade de reidratação do pó obtido, uma vez que, comparando os ensaios 6 e 13, um menor tempo de reidratação foi obtido para o ensaio 6, no qual o suco foi desidratado numa maior temperatura. Segundo Goula e Adamopoulos (2010), o aumento da temperatura do ar de secagem geralmente produz partículas maiores e mais porosas, com isso, ocorre uma diminuição no tempo necessário para o pó ser reidratado. As partículas maiores podem se depositar, enquanto as pequenas geralmente flutuam na água, dificultando a reconstituição do pó.

Comparando agora os ensaios 13 e 15, podemos observar que a gelatina, quando utilizada em combinação com a maltodextrina dificultou a reidratação do pó, uma vez que um maior tempo foi necessário para total reconstituição do mesmo quando a gelatina foi empregada. Isso pode ser explicado devido a uma das principais características da gelatina que é a de formar um gel coloidal em meio aquoso, a temperaturas próximas da ambiente, o que dificulta sua dissolução em água. Esse aumento no tempo de reidratação também ocorreu quando o pó foi desidratado a 120°C, utilizando 15% de maltodextrina + 1% de gelatina.

O ensaio 14 apresentou melhor valor de reidratação quando comparado ao ensaio 15. De acordo com Goula e Adamopoulos (2010), o efeito da maltodextrina na capacidade de reidratação de pós é devido à diminuição da pegajosidade das partículas, o que facilita sua solubilidade em água, uma vez que maior será a superfície de contato da partícula com a água. Ainda segundo esses autores, um aumento da concentração de maltodextrina não causa uma redução na capacidade de reidratação dos pós, no entanto, quando uma maior concentração de maltodextrina foi empregada no suco probiótico de abacaxi, o tempo de reidratação do pó foi maior. A sílica, por sua vez, também ocasionou uma redução na capacidade de reidratação do pó quando empregada em combinação com a maltodextrina e gelatina.

Nos ensaios nos quais a goma arábica foi empregada individualmente, o tempo de reidratação foi bem mais elevado.

#### 4.10 Cor

Os parâmetros de cor dos sucos reconstituídos estão apresentados na Tabela 7. Todos os pós foram produzidos sob as mesmas condições operacionais de secagem (temperatura do ar de secagem, taxa de alimentação do suco, vazão e velocidade do ar quente). Contudo, as diferenças nas propriedades ópticas dos sucos reconstituídos foram dependentes do tipo de agente empregado e sua concentração.

Para as variações nos valores de luminosidade ( $L^*$ ), podemos observar que apenas o ensaio 11, não apresentou diferença significativa em relação ao suco *in natura* ( $p < 0,05$ ). Apesar dos demais ensaios terem diferenciado do controle, uma mudança de luminosidade foi mais evidenciada no ensaio 17, no qual foi empregado 10% de goma arábica. Neste ensaio, ocorreu um decréscimo da luminosidade e, conseqüentemente, escurecimento da amostra.

Yousefi; Emam-Djomeh; Mousavi (2010) reportam em seus estudos que, apesar da goma arábica ser responsável em garantir boas propriedades físicas para o pó, seu emprego afeta consideravelmente as características de cor do produto.

**Tabela 7** - Influência das condições de secagem<sup>(1)</sup> na variação da cor do suco de abacaxi probiótico reconstituído em relação ao suco *in natura*<sup>(2)</sup>

Ensaio	L*	a*	b*	h°	ΔC	ΔE
8	85,12 ± 0,03 <sup>c</sup>	-1,11 ± 0,05 <sup>c</sup>	4,8 ± 0,02 <sup>i</sup>	97,89 ± 0,02 <sup>h</sup>	9,84 ± 0,03 <sup>d</sup>	4,22 ± 0,02 <sup>f,g</sup>
9	82,35 ± 0,06 <sup>f</sup>	-1,93 ± 0,02 <sup>e</sup>	11,2 ± 0,01 <sup>c</sup>	99,84 ± 0,11 <sup>g,h</sup>	11,8 ± 0,38 <sup>c</sup>	3,37 ± 0,03 <sup>h</sup>
10	85,2 ± 0,09 <sup>c</sup>	-1,14 ± 0,02 <sup>c</sup>	4,43 ± 0,01 <sup>j</sup>	104,48 ± 0,20 <sup>c,d,e,f</sup>	4,57 ± 0,01 <sup>h</sup>	4,56 ± 0,02 <sup>f</sup>
11	84,12 ± 0,07 <sup>d,e</sup>	-1,29 ± 0,02 <sup>d</sup>	4,99 ± 0,01 <sup>h</sup>	104,52 ± 0,10 <sup>c,d,e,f</sup>	5,16 ± 0,01 <sup>g</sup>	3,93 ± 0,02 <sup>g</sup>
12	80,14 ± 0,04 <sup>g</sup>	-3,77 ± 0,05 <sup>j</sup>	18,22 ± 0,03 <sup>a</sup>	101,69 ± 0,03 <sup>e,f,g,h</sup>	18,60 ± 0,03 <sup>a</sup>	10,54 ± 0,04 <sup>b</sup>
13	85,17 ± 0,16 <sup>c</sup>	-2,13 ± 0,02 <sup>f</sup>	6,85 ± 0,10 <sup>g</sup>	107,28 ± 0,39 <sup>c,d</sup>	7,17 ± 0,09 <sup>f</sup>	2,03 ± 0,14 <sup>i</sup>
14	82,71 ± 0,32 <sup>f</sup>	-2,61 ± 0,05 <sup>h,i</sup>	8,15 ± 0,04 <sup>f</sup>	107,77 ± 0,40 <sup>c</sup>	8,56 ± 0,02 <sup>e</sup>	1,80 ± 0,31 <sup>i</sup>
15	85,95 ± 0,08 <sup>b</sup>	-0,70 ± 0,01 <sup>b</sup>	1,07 ± 0,04 <sup>m</sup>	123,10 ± 0,89 <sup>b</sup>	1,28 ± 0,04 <sup>j</sup>	7,99 ± 0,05 <sup>d</sup>
16	82,52 ± 0,45 <sup>f</sup>	-2,56 ± 0,01 <sup>h</sup>	8,16 ± 0,02 <sup>f</sup>	107,41 ± 0,04 <sup>c,d</sup>	8,56 ± 0,02 <sup>e</sup>	1,99 ± 0,44 <sup>i</sup>
17	67,71 ± 0,01 <sup>h</sup>	-2,60 ± 0,02 <sup>h</sup>	12,87 ± 0,01 <sup>b</sup>	101,42 ± 0,08 <sup>f,g,h</sup>	13,12 ± 0,01 <sup>b</sup>	17,25 ± 0,01 <sup>a</sup>
18	83,74 ± 0,09 <sup>e</sup>	-1,95 ± 0,02 <sup>e</sup>	8,39 ± 0,04 <sup>e</sup>	103,07 ± 0,13 <sup>d,e,f,g</sup>	8,62 ± 0,03 <sup>e</sup>	1,05 ± 0,06 <sup>j</sup>
19	86,96 ± 0,13 <sup>a</sup>	-0,41 ± 0,01 <sup>a</sup>	-0,35 ± 0,07 <sup>n</sup>	220,45 ± 0,47 <sup>a</sup>	0,53 ± 0,05 <sup>e</sup>	9,62 ± 0,09 <sup>c</sup>
20	85,29 ± 0,14 <sup>c</sup>	-2,34 ± 0,01 <sup>g</sup>	3,24 ± 0,03 <sup>l</sup>	125,87 ± 0,41 <sup>b</sup>	4,00 ± 0,02 <sup>i</sup>	5,50 ± 0,05 <sup>e</sup>
<b>Controle (<i>in natura</i>)</b>	84,44 ± 0,06 <sup>d</sup>	-2,67 ± 0,01 <sup>i</sup>	8,66 ± 0,05 <sup>d</sup>	105,92 ± 0,11 <sup>c,d,e</sup>	-----	-----

<sup>(1)</sup> Parâmetros de secagem: temperatura de entrada do ar de secagem (100°C); vazão de alimentação do suco (0,3 L/h); vazão do ar quente (3,0 L/m<sup>3</sup>) e velocidade do ar de secagem (30 L/m).

<sup>(2)</sup> Médias com letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (p<0,05); L\* (luminosidade); a\* (croma verde-vermelho); b\* (croma azul-amarelo); h° (tonalidade); ΔC (índice de croma); ΔE (variação total de cor). Valores são: média ± desvio padrão (n=5).

Com relação ao parâmetro  $a^*$  cuja variação é do verde (-) ao vermelho (+), apesar de somente uma das amostras (ensaio 14) não ter diferenciado do controle, todas as demais amostras permaneceram em valores negativos. De acordo com Yoshida e Antunes (2009), o escurecimento evidencia a ação de enzimas. No entanto, podemos concluir que as amostras do suco de abacaxi probiótico apresentaram cor característica de abacaxi, após a secagem e reconstituição do pó, uma vez que seus valores permaneceram negativos para o parâmetro  $a^*$ .

Os resultados de coloração para o parâmetro  $b^*$  cuja variação é do amarelo (+) para o azul (-), podemos observar que todas as amostras analisadas diferiram estatisticamente ( $p < 0,05$ ) do suco *in natura*. As amostras de suco dos ensaios 9, 12 e 17 apresentaram valores de  $b^*$  mais elevados que o controle, indicando, desta forma, que após o processamento e reconstituição do pó, essas amostras mostraram uma intensificação da cor amarela. A elevada quantidade de agente protetor utilizado deve ter sido o responsável por essa intensificação de tonalidade das amostras. Também pode ter ocorrido leves reações de escurecimento das amostras quando as mesmas foram submetidas ao processo de desidratação. Por outro lado, as demais amostras apresentaram uma leve redução de intensificação da cor amarela.

Com relação ao ângulo de tonalidade ( $h^\circ$ ), os ensaios 15, 19 e 20 apresentaram um aumento nesse parâmetro, demonstrando que os sucos reconstituídos nessas condições avaliadas tenderam a ficar mais amarelados após o processo de secagem e reconstituição do pó. Para os ensaios 8, 9 e 17 os valores do ângulo de tonalidade ( $h^\circ$ ) diminuíram após o processo de desidratação do suco e reconstituição do mesmo. Mestry et al. (2011) relatam em seus estudos que a temperatura de secagem é responsável pela diminuição da cor do produto. Em outras palavras, ocorre uma degradação substancial dos componentes responsáveis pela coloração quando o alimento é exposto às altas temperaturas de secagem.

Os valores de  $\Delta E$  indica a diferença total da cor dos sucos em relação ao controle. Esse parâmetro foi calculado pela expressão:  $\Delta E = \{(\Delta L^2) + (\Delta a^2) + (\Delta b^2)\}^{1/2}$ .

Segundo Fonteles (2011), diferenças perceptíveis nos parâmetros de cor podem ser analiticamente classificadas em: muito distintas ( $\Delta E > 3$ ); distintas ( $1,5 < \Delta E < 3$ ) e ligeiramente distintas ( $\Delta E < 1,5$ ).

Dessa forma, os resultados de  $\Delta E$  das amostras analisadas mostram que todas elas apresentaram-se diferentes quando comparadas ao suco *in natura*. No entanto, essa mudança de coloração já era esperada, uma vez que o suco passou por vários estágios de processamento (tratamento térmico, fermentação, adição de agentes de protetores e secagem) até o momento de sua reconstituição.

Segundo Coelho (2009), tais alterações nos valores de  $\Delta E$  podem ser atribuídas ao grande número de células viáveis do *L. casei*, pois além de sua biomassa, seus produtos metabólicos podem ter ocasionado alterações na coloração do produto.

O ensaio 18, utilizando 5% de goma arábica, para desidratação do suco, foi o ensaio que menos diferenciou do controle. Por outro lado, o uso de 10% de goma arábica (ensaio 17) foi o que apresentou maior diferença quando comparado à amostra controle. Alguns autores relatam em seus trabalhos que a utilização da goma arábica nos processos de secagem de sucos desfavorece a coloração do pó e do suco após a reconstituição do mesmo. Contudo, neste estudo, quando baixas concentrações de goma foram empregadas, as mudanças totais de coloração foram mínimas, indicando que ela pode ser usada sem afetar visualmente a característica de cor do produto quando comparada a uma amostra controle.

## 5 CONCLUSÕES

A temperatura de 100 °C foi estabelecida como adequada, dentre as estudadas, para a secagem do suco probiótico de abacaxi, uma vez que favoreceu o crescimento do *Lactobacillus casei* após a secagem e reconstituição do pó.

O tratamento térmico (90 °C por 1 minuto) aplicado ao suco de abacaxi antes da fermentação foi favorável para inativação das proteases e, influenciou de forma positiva no crescimento do micro-organismo, uma vez que a ausência destas enzimas permitiu melhores níveis de sobrevivência do micro-organismo quando comparado ao suco que não passou por tratamento.

Excelentes níveis de sobrevivência do *L. casei* foram alcançados, quando foi adicionado ao suco probiótico 10% de gelatina e 5% de goma arábica (97 e 95%, respectivamente) e, esses valores de sobrevivência foram semelhantes quando comparados ao suco desidratado com 10% de leite desnatado (95%), evidenciando que é possível manter a viabilidade de bactérias probióticas no suco de abacaxi desidratado por *spray dryer*, adicionando agentes protetores de origem não-láctea, podendo formular um novo produto sem as limitações dos produtos lácteos. Contudo, a reidratação do pó nessas condições foi mais lenta.

Os melhores níveis de rendimento foram obtidos quando foram utilizados 10% de goma arábica e a combinação de 10% de maltodextrina + 1% de gelatina. Por outro lado, o menor rendimento foi quando se empregou 10% de gelatina no suco tratado termicamente.

O ensaio que utilizou 5% de goma arábica foi o ensaio que, após a reconstituição do pó, menos diferenciou do suco de abacaxi *in natura* em relação à cor. Por outro lado, uma maior diferença na cor foi observada quando foram empregados 10% de goma arábica.

Dados dessa pesquisa mostram que o suco de abacaxi probiótico em pó pode ser um meio alternativo para a liberação de micro-organismos probióticos para a saúde.

Há poucos dados disponíveis na literatura em relação à estabilidade de alimentos probióticos desidratados e armazenados à temperatura ambiente ou a temperaturas mais elevadas, e nos poucos casos relatados a sobrevivência é bastante limitada. Dessa forma, estudos posteriores devem ser conduzidos no intuito de avaliar a viabilidade de estocar pó de abacaxi contendo micro-organismos probióticos, com o intuito de garantir a qualidade do produto durante um período de vida útil considerável.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde**. Atualizados em julho, 2008. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/anvisa/home/alimentos>. Acessado em 18 set. 2011.
2. ANAL, A. K.; SINGH, H. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. **Trends in Food Science & Technology**, v. 18, p. 240-251, 2007.
3. ANTUNES, A. E. C.; MARASCA, E. T. G.; MORENO, I.; DOURADO, F. M.; RODRIGUES, L. G.; LERAYER, A. L. S. Desenvolvimento de *buttermilk* probiótico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, p. 83-90, 2007.
4. ARBALLO, J. R.; CAMPAÑONE, L. A.; MASCHERONI, R. H. Modeling of Microwave Drying of Fruits. **Drying Technology**, v. 28, p. 1178-1184, 2010.
5. BARBOSA, S. J. **Qualidade de suco em pó de mistura de frutas obtido por *spray drying***. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal no Semiárido). Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba-MG, 2010.
6. BURGAIN, J.; GAIANI, C.; LINDER, M. E SCHER, J. Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. **Journal of Food Engineering**, v. 104, p. 467-483, 2011.
7. BURITI, F. C. A.; SAAD, S. M. I. Bacteria of *Lactobacillus casei* group: Characterization, viability as probiotic in food products and their importance for human health. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 57, n. 4, p. 373-380, 2007.
8. CHANPRASARTSUK, O. O.; PRAKITCHAIWATTANA, C.; SANGUANDEEKUL, R.; FLEET, G. H. Autochthonous yeasts associated with mature pineapple fruits, freshly crushed juice and their ferments; and the chemical during natural fermentation. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 7500-7509, 2010.
9. CHARNEY, J. e TOMARELLI, R. M. A colorimetric method for the determination of the proteolytic activity of duodenal juice. **Journal of Biological Chemistry**, n. 23: p. 501-505, 1947.
10. CHÁVARRI, M.; MARAÑÓN, I.; ARES, R.; IBÁÑEZ, F.C.; MARZO, F.; VILLARÁN, M.D.C. Microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastro-intestinal conditions. **International Journal of Food Microbiology**. p. 185-189, 2010.
11. CHÁVEZ, B. E., & LEDEBOER, A. M. Drying of probiotics: optimization of formulation and process to enhance storage survival. **Drying Technology**, v. 25, p. 1193–1201, 2007.
12. CHEGINI, G. R.; GHOBADIAN, B. Spray dryer parameters for fruit juice drying. **World Journal of Agricultural Sciences**, v. 3, n. 2, p. 230-236, 2007.

13. CHEN, X. D.; PATEL, K. C. Manufacturing better quality food powders from spray drying and subsequent treatments. **Drying Technology**, v. 26, n. 11, p.1313-1318, 2008.
14. CHEN, X. D., & PATEL, K. C. Microorganism inactivation during drying of small droplets or thin-layer slabs - A critical review of existing kinetics models and an appraisal of the drying rate dependent model. **Journal of Food Engineering**, v. 82, p. 1-10, 2007.
15. COELHO, J. C. **Elaboração de bebida probiótica a partir do suco de laranja fermentado com *Lactobacillus casei***. 2009. 90 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.
16. COLBÈRE-GARAPIN, F.; MARTIN-LATIL, S.; BLONDEL, B.; MOUSSON, L.; PELLETIER, I.; AUTRET, A.; FRANÇOIS, A.; NIBORSKI, V.; GROMPONE, G.; CATONNET, G.; VAN DE MOER, A. Prevention and treatment of enteric viral infections: possible benefits of probiotic bacteria. **Microbes and Infection**, v. 9, p. 1623-1631, 2007.
17. COSTA, M. G. M. **Suco de abacaxi sonificado e fermentado por *Lactobacillus casei* para produção de uma nova bebida probiótica**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2010.
18. CRUZ, A. G.; ANTUNES, A. E. C.; SOUSA, A. L. O. P.; FARIA, J. A. F.; SAAD, S. M. I. Ice-cream as a probiotic food carrier. **Food Research International**, v. 42, p. 1233-1239, 2009.
19. DE VRESE, M., SCHREZENMEIR, J. Probiotics, prebiotics, and synbiotics. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. v. 111, p. 1–66, 2008.
20. DE VUYST, L.; FALONY, G.; LEROY, F. Probiotics in fermented sausages. **Meat Science**, v. 80, p. 75-78, 2008.
21. DING, W. K.; SHAH, N. P. Survival of free and microencapsulated probiotic bacteria in orange and apple juices. **International Food Research Journal**, v. 15, p. 219-232, 2008.
22. DONKOR, O. N.; HENRIKSSON, A.; VASILJEVIC, T.; SHAH, N. P. Rheological properties and sensory characteristics of set type soy yogurt. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 9868-9876, 2007.
23. EL-SALAM, M. H. A.; HIPPEN, A. R.; EL-SHAFIE, K.; ASSEM, F. M.; ABBAS, H.; EL-AZIZ, M. A.; SHARAF, O.; EL-AASSAR, M. Preparation and properties of probiotic concentrated yoghurt (labneh) fortified with conjugated linoleic acid. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, p. 2103-2110, 2011.
24. ENDO, E.; BORGES, S.V.; DAIUTO, E.R.; CEREDA, M.P.; AMORIM, E. Avaliação da vida de prateleira do suco de maracujá (*Passiflora edullis* f. *flavicarpa*) desidratado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.2, p. 382-386, 2007.
25. FAO/WHO. **Guidelines for the evaluation of probiotics in food**. Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization Working Group Report. 2002.



26. FAZELI, M. R.; AMIRMOZAFARI, N.; GOLBOOI NEJAD, R.; JAMALIFAR, H. Antagonistic action of watermelon juice probiocated using different strains of Lactobacilli against *Salomella typhimurium*. **Iranian Journal of Public Health**, v. 36, n. 4, p. 70–73, 2007.
27. FIGUEROA-GONZÁLEZ, I.; QUIJANO, G.; RAMÍREZ, G.; CRUZ-GUERRERO, A. Probiotics and prebiotics – perspectives and challenges. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. online, p. 1-8, 2011.
28. FITZPATRICK, J. J.; DESCAMPS, N.; O'MEARA, K.; JONES, C.; WALSH, D.; SPITERE, M. Comparing the caking behaviours of skim milk powder, amorphous maltodextrin and crystalline common salt. **Powder Technology**, v. 204, p. 131–137, 2010.
29. FLOCH, M.H.; The Effect of Probiotics on Host Metabolism. The Microbiota and Fermentation. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 44, p. 19-21, 2010.
30. FONTELES, T. V. **Desenvolvimento de uma nova bebida funcional probiótica à base de suco de melão *Cantaloupe* sonificado**. 2011. 138 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011.
31. FONTELES, T. V.; COSTA, M. G. M.; DE JESUS, A. L. T.; RODRIGUES, S. Optimization of the fermentation of cantaloupe juice by *Lactobacillus casei* NRRL B-442. **Food and Bioprocess Technology**, v. online, p. 1-8, 2011.
32. FREITAS, A.A.; FRANCELIN, M. F.; HIRATA, G. F.; CLEMENTE, E. e SCHMIDT, F. L. Atividades das enzimas peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) nas uvas das cultivares benitaka e rubi e em seus sucos e geléias. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28 (1), p. 172-177, 2008.
33. FURTUNATO, A. A. Estudo da cinética de inativação térmica da pectina esterase e peroxidase presente na polpa de cajá (*Spondias lútea*). Rio Grande do Norte, 74p. 2002. Dissertação (Mestre em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN).
34. GARAI-IBABE, G.; DUEÑAS, M. T.; IRASTORZA, A.; SIERRA-FILARDI E.; WERNING M. L.; LÓPEZ P.; CORBÍ A. L.; FERNÁNDEZ de P. P. Naturally occurring 2-substituted (1,3)-b-D-glucan producing *Lactobacillus suebicus* and *Pediococcus parvulus* strains with potential utility in the production of functional foods. **Bioresource Technology**, v.101, p. 9254–9263, 2010.
35. GAVA, A.J.; SILVA, C.A.B. da; FRIAS, J.R.G. **Tecnologia de Alimentos: Princípios e Aplicações**. Nobel, Edição revisada e atualizada. São Paulo, 2009. 511p.
36. GOTTELAND, M.; ANDREWS, M.; TOLEDO, M.; MUÑOZ, L.; CACERES, P.; ANZIANI, A.; WITTIG, E.; SPEISKY, H.; SALAZAR, G. Modulation of *Helicobacter pylori* colonization with cranberry juice and *Lactobacillus johnsonii* Lal in children. **Applied nutritional investigation**, v. 24, p. 421-426, 2008.
37. GOULA, A. M.; ADAMOPOULOS, K. G. A new technique for spray drying orange juice concentrate. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v 11, p 342-351, 2010

38. GRANATO, D., BRANCO, G. F., NAZZARO, F., CRUZ, A. G., & FARIA, J. A. F. Functional food and nondairy probiotic food development: Trends, concepts, and products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(3), p.292–302, 2010.
39. GUERGOLETTTO, K. B.; MAGNANI, M.; MARTIN, J. S.; ANDRADE, C. G. T. J.; GARCIA, S. Survival of *Lactobacillus casei* (LC-1) adhered to prebiotic vegetal fibers. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, v. 11, p. 415-421, 2010.
40. HOMAYOUNI, A.; AZIZI, A.; EHSANI, M. R.; YARMAND, M. S.; RAZAVI, S. H. Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of symbiotic ice cream. *Food chemistry*, v. 111, p. 50-55, 2008.
41. HSIAO, H.; LIAN, W.; CHOU, C. Effect of packaging conditions and temperature on viability of microencapsulated bifidobacteria during storage, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, n. 84, p. 134–139, 2004.
42. IGNÁRIO, R.M.; LANNES, S.C.S. Preparation of powdered egg yolk using a mini spray dryer. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.27,n.4, 729-732, 2007.
43. JANGAM, S. V.; JOSHI, V. S.; MUJUMDAR, A. S.; THORAT, B. N. Studies on Dehydration of Sapota (*Achras zapota*). *Drying Technology*, v. 26, p. 369-377, 2008.
44. JANKOVIC, I.; SYBESMA, W.; PHOTHIRATH, P.; ANANTA, E. E. MERCENIER, A. Application of probiotics in food products – challenges and new approaches. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 21, p. 175-181, 2010.
45. JAWORSKA, D.; NEFFE, K.; KOLOZYN-KRAJEWSKA, D.; DOLATOWSKI, Z. Survival during storage and sensory effect of potential probiotic lactic acid bacteria *Lactobacillus acidophilus* Bauer and *Lactobacillus casei* Bif3<sup>7</sup>/IV in dry fermented pork loins. *International Journal of Food Science and Technology*, v. on line, p. 1-7, 2011.
46. JAYA, S.; DAS, H. Glass Transition and Sticky Point Temperatures and Stability/ Mobility Diagram of Fruit Powders. *Food and Bioprocess Technology*, v. online, p. 1-7, 2009.
47. JAYASUNDERA, M.; ADHIKARI, B.; ADHIKARI, R.; ALDRED, P. The effects of proteins and low molecular weight surfactants on spray drying of model sugar-rich foods: Powder production and characterization. *Journal of Food Engineering*, v. 104, p. 259-271, 2011.
48. JITTANIT, W.; NITI-ATT, S. E. TECHANUNTACHAIKUL, O. Study of Spray Drying of Pineapple Juice Using Maltodextrin as an Adjunct. *Chiang Mai Journal of Science*, v. 37, n.3, p. 498-506, 2010.
49. JOSHI, V. S.; THORAT, B. N. Formulation and Cost-Effective Drying of Probiotic Yeast. *Drying Technology*, v. 29, p. 749-757, 2011.
50. JULIANO, P. & BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Food Powders Flowability Characterization: Theory, Methods, and Applications. *Annual Review of Food Science and Technology*, v. 1, p. 211-239, 2010.

51. KARACA, O. B.; GÜVEN, M.; YASAR, K.; RAYA, S.; KAHYAOGLU, T. The functional, rheological and sensory characteristics of ice cream with various fat replacers. **International Journal of Dairy Technology**, v. 62, p. 93-99, 2009.
52. KEARNEY, N.; MENG, X.C.; STANTON, C.; KELLY, J.; FITZGERALD, G.F.; ROSS, R.P. Development of a spray dried probiotic yoghurt containing *Lactobacillus paracasei* NFBC 338. **International Dairy Journal**, v.19, p.684-689, 2009.
53. KHALF, M.; DABOUR, N.; KHEADR, E.; FLISS, I. Viability of probiotic bacteria in maple sap products under storage and gastrointestinal conditions. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 7966-7972, 2010.
54. KIM, D. C., CHAE, H. J., & IN, M. J. Fermentation characteristics of Korean pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) puree by the *Leuconostoc mesenteroides* 51-3 strain isolated from kimchi. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, p. 5735-5738, 2010.
55. KITAMURA, Y.; ITOH, H.; ECHIZEN, H.; SATAKE, T. Experimental vacuum spray drying of probiotic foods included with lactic acid bacteria. **Journal of Food Processing and Preservation**, v.33, p. 714-726, 2009.
56. KOMATSU, T.R.; BURITI, F.C.A.; SAAD, SM.I. Inovação, persistência e criatividade superando barreiras no desenvolvimento de alimentos probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 3, 2008.
57. KUMAR, M.; GHOSH, M.; GANGULI, A. Mitogenic response and probiotic characteristics of lactic acid bacteria isolated from indigenously pickled vegetables and fermented beverages. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. on line, p. 1-9, 2011.
58. MAGARIÑOS, H.; CARTES, P.; FRASER, B.; SELAIVE, S.; COSTA, M.; FIGUEROLA, F.; PIZZARO, O. Viability of probiotic microorganisms (*Lactobacillus casei* Shirota and *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis*) in a milk-based dessert with cranberry sauce. **International Journal of Dairy Technology**, v. 61, p. 96-101, 2008.
59. MATSUMOTO, M.; SAKAMOTO, M.; BENNO, Y. Dynamics of fecal microbiota in hospitalized elderly fed probiotic LKM512 yogurt. **Microbiology and Immunology**, v. 53, p. 421-432, 2009.
60. MATSUNO, H. E URITANI, I. Physiological behavior of peroxidase isozymes in sweet potato root tissue injured by cutting or with black rot. **Plant and cell Physiology**, v.13, p. 1091-1101, 1972.
61. MESTRY, A. P.; MUJUMDAR, A. S.; THORAT, B. N. Optimization of Spray Drying of an Innovative Functional Food: Fermented Mixed Juice of Carrot and Watermelon. **Drying Technology**, v. online, p. 1-11, 2011.
62. MINOSHA, A. Probiotics for preventive health. **Nutrition in Clinical Practice**, v. 24, n. 2, p. 227-241, 2009.

63. NAZZARO, F.; FRATIANNI, F.; SADA, A.; ORLANDO, P. Synbiotic potential of carrot juice supplemented with *Lactobacillus* spp. and inulin or fructooligosaccharides. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.88, p. 2271-2276, 2008.
64. OLIVEIRA, A.R.G. de; BORGES, S.V.; FARIA, R.K.; ENDO, E.; GREGÓRIO, S.R. Influência das condições de secagem por atomização sobre as características sensoriais de sucos maracujá (*passiflora edullis* ) e abacaxi (*ananas comosus* ) desidratados. **Revista de Ciências Agrônômicas**, v. 38, n.3, p. 251-256, 2007.
65. OLIVEIRA, M.N.; **Tecnologia de Produtos Lácteos Funcionais**/editora Maricê Nogueira de Oliveira. São Paulo: Atheneu Editora, 2009.
66. PANESAR, P. S. Fermented dairy products: starter cultures and potential nutritional benefits. **Food and Nutrition Sciences**, v. 2, p. 47–51, 2011.
67. PARAMITA, V.; IIDA, K.; YOSHII, H.; FURUTA, T. Effect of additives on the morphology of spray-dried powder. **Drying Technology**, v. 28, n. 3, p 323-329, 2010.
68. PEIGHAMBARDoust, S. H.; GOLSHAN TAFTI, A. E.; HESARI, J. Application of spray drying for preservation of lactic acid starter cultures: a review. **Trends in Food Science & Technology**, p. 1-10, 2011.
69. PEREIRA, A. L. F.; MACIEL, T. C.; RODRIGUES, S. Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with *Lactobacillus casei*. **Food Research International**, v. 44, n.5, p. 1276-1283, 2011.
70. POSSEMIERS, S., MARZORATI, M., VERSTRAETE, W., & VAN DE WIELE, T. Bacteria and chocolate: a successful combination for probiotic delivery. **International Journal of Food Microbiology**, v. 141(1e2), p. 97-103, 2010.
71. PRADO, S.; ROMALDE, J.L.; BARJA, J.L. Review of Probiotics for use in bivalve hatcheries. **Veterinary Microbiology**, p. 1-11, 2010.
72. PRADO, F. C.; PARADA, J. L.; PANDEY, A.; SOCCOL, C. R. Trends in non-dairy probiotic beverages. **Food Research International**, v. 41, p. 111-123, 2008.
73. RANADHEERA, R.D.C.S.; BAINES, S.K.; ADAMS, M.C. Importance of food in probiotic efficacy. **Food Research International**, v. 43, p. 1-7, 2010.
74. RAY, R. C.; SIVAKUMAR, P. S. Traditional and novel fermented foods and beverages from tropical root and tuber crops: review. **International Journal of Food Science & Technology**, Oxford, v. 44, n. 6, p. 1073–1087, 2009.
75. REDDY, K. B. P. K.; MADHU, A. N.; PRAPULLA, S. G. Comparative survival and evaluation of functional probiotic properties of spray-dried lactic acid bacteria. **International Journal of Dairy Technology**, v. 62, n. 2, may. 2009.
76. RENUKA, B.; KULKARNI, P.; PRAPULLA, S. G. Fructooligosaccharide fortification of select fruit juice beverages: effect on the quality characteristics. **Food Science and Technology**, v. 42, n. 5, p.1031-1033, 2008.

77. RESEARCH AND MARKETS. Functional foods market assessment 2010. Disponível em: [www.researchandmarkets.com/reports/](http://www.researchandmarkets.com/reports/). Acessado em 12 set. 2011.
78. RIVERA-ESPINOZA, Y., & NAVARRO, Y. G. Non-dairy probiotic products. **Food Microbiology**, 27(1), 1–10, 2010.
79. RIVEROS, B.; FERRERA, J.; BÓRQUEZ, R. Spray Drying of a Vaginal Probiotic Strain of *Lactobacillus acidophilus*. **Drying Technology**, n. 27, p. 123-132, 2009.
80. ROBERFROID, M.B. Inulin-type fructans: functional foods ingredients. **Journal of Nutrition**, v.137, n.11, p.2493S-2502S, 2007.
81. RÖBLE, C.; AUTY, M. A. E.; BRUNTON, N.; GORMLEY, R. T.; BUTLER, F. Evaluation of fresh-cut apple slices enriched with probiotic bacteria. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 11, p. 203-209, 2010.
82. ROKKA, S. e RANTAMÄKI, P. Protecting probiotic bacteria by microencapsulation: challenges for industrial applications. **European Food Research and Technology**, n. 231, p. 1-12, 2010.
83. ROMAN, J. A. E SGARBIERI, V. C. Caracterização Físico-química do Isolado Protéico de Soro de Leite e Gelatina de Origem Bovina. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 10, n. 2, p. 137-143, 2007.
84. ROOS, Y. H. Glass transition temperature and its relevance in food processing. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 1, p. 469-496, 2010.
85. ROUSTAPOUR, O. R.; HOSSEINALIPOUR, M.; GHOBADIAN, B.; MOHAGHEGH, F.; AZAD, N. M. A proposed numerical-experimental method for drying kinetics in a spray dryer. **Journal of Food Engineering**, v. 90, p. 20-26, 2009.
86. SAAD, S.M.I.; CRUZ, A.G.; FARIA, J.A.F. **Probióticos e Prebióticos em Alimentos: Fundamentos e Aplicações Tecnológicas**. 1. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2011.
87. SANCHEZ, B.; REYES-GAVILAN, C. G.; MARGOLLES, A.; GUEIMONDE, M. Probiotic fermented milks: present and future. **International Journal of Dairy Technology**, v. 62, p. 1-10, 2009.
88. SANTIVARANGKNA, C.; HIGL, B.; FOERST, P. Protection mechanisms of sugars during different stages of preparation process of dried lactic acid starter cultures. **Food Microbiology**, v. 25, p. 429–441, 2008 (a).
89. SANTIVARANGKNA, C.; KULOZIK, U.; FOERST, P. Inactivation mechanisms of lactic acid starter cultures preserved by drying processes. **Journal of Applied Microbiology**, v. 105, p. 1-13, 2008 (b).
90. SANTIVARANGKNA, C.; KULOZIK, U.; FOERST, P. Alternative drying processes for the industrial preservation of lactic acid starter cultures. **Biotechnology Progress**, v. 23, p. 302–315, 2007.

91. SAXELIN, M. Probiotic formulations and applications, the current probiotics market and changes in the market place: a European perspective. **Clinical Infectious Disease**, v. 46, p. 76-79, 2008.
92. SHAH, N. P.; DING, W. K.; FALLOURD, M. J.; LEYER, G. Improving the Stability of Probiotic Bacteria in Model Fruit Juices Using Vitamins and Antioxidants. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 5, p. M278-M285, 2010.
93. SHARP, M. D.; MCMAHON, D. J.; BROADBENT, J. R. Comparative evaluation of yogurt and low-fat Cheddar cheese as delivery media for probiotic *Lactobacillus casei*. **Journal of Food Science**, v. 73, p. M375-M377, 2008.
94. SILALAI, N.; ROOS, Y. H. Mechanical  $\alpha$ -relaxations and stickiness of milk solids/maltodextrin systems around glass transition. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. online, p. 1-8, 2011.
95. SILVA, L. C. A. **Efeito da desidratação osmótica assistida por ultrassom no processo de secagem convectiva de abacaxi pérola**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012.
96. SILVEIRA, M. S.; FONTES, C. P. M. L.; GUILHERME, A. A.; FERNANDES, F. A. N.; RODRIGUES, S. Cashew Apple juice as substrate for lactic acid production. **Food and Bioprocess Technology**, v. on line, p. 1-7, 2010.
97. SHEEHAN, V.M.; ROSS, P.; FITZGERALD, G.F. Assessing the acid tolerance and the technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit juices. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.8, p. 279-284, 2007.
98. SHRESTHA, A.K., UA-ARAK, T., ADHIKARI, B.P., HOWES, T., BHANDARI, B.R. Glass transition behavior of spray dried orange juice powder measured by differential scanning calorimetry (DSC) and thermal mechanical compression test (TMCT). **International Journal of Food Properties** 10 (3), 661–673, 2007.
99. SUNNY ROBERTS, E. O., & KNORR, D. The protective effect of monosodium glutamate on survival of *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Lactobacillus rhamnosus* E-97800 (E800) strains during spray drying and storage in trehalose-containing powders. **International Dairy Journal**, v. 19, p. 209–214, 2009.
100. TONON, R. V.; BARONI, A. F.; BRABET, C.; GILBERT, O.; PALLET, D.; HUBINGUER, M. D. Water sorption and glass transition temperature of spray dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice. **Journal of Food Engineering**, v. 94, p. 215-221, 2009.
101. TWETMAN, S.; STECKSÉN-BLICKS, C. Probiotics and oral health effects in children. **International Journal of Paediatric Dentistry**, v. 18, p. 3-10, 2008.
102. TURCHIULI, C.; GIANFRANCESCO, A.; PALZER, S.; DUMOULIN, E. Evolution of particle properties during spray drying in relation with stickiness and agglomeration control. **Powder Technology**, v. online, p. 1-8, 2010.

103. VASILJEVIC, T.; SHAH, N. P. Probiotics – from Metchnikoff to bioactives. **International Dairy Journal**, v. 18, p. 714-728, 2008.
104. WAITZBERG, Dan Linetzky. **Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica**. 4.ed. São Paulo: Atheneu, v.2, 2009.
105. WALDHERR, F. W.; VOGEL, R. F. **Commercial exploitation of homoexopolysaccharides in non-dairy food systems**. In: Ullrich, M. (Ed.), *Bacterial Polysaccharides*. Caister Academic Press, Norwich, UK, pp. 313–329, 2009.
106. WANG, K. Y.; LI, S. N.; LIU, C. S.; PERNG, D. S.; SU, Y. C.; WU, D. C.; JAN, C. M.; LAI, T. S.; WANG, T. S.; WANG, W. M. Effects of ingesting *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* containing yogurt in subjects with colonized *Helicobacter pylori*. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 80, p. 737-741, 2008.
107. WIRJANTORO, T. I.; PHIANMONGKHOL, A. The Viability of Lactic Acid Bacteria and *Bifidobacterium bifidum* in Yoghurt Powder During Storage. **Journal of Natural Sciences**, v. 8, n. 1, p. 95-104, 2009.
108. WISSEMANN, K. W. & LEE, C. Y. Polyphenoloxidase Activity During Grape Maturation and Wine Production. **American Journal of Enology and Viticulture**, n. 31, p. 206-211, 1980.
109. YOSHIDA, C.M.P.; ANTUNES, A.J.; Aplicação de filmes protéicos à base de soro de leite. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 2, p. 420-430, 2009.
110. YOUSEFI, S.; EMAM-DJOMEH, Z.; MOUSAVI, S. M. Effect of carrier type and spray drying on the physicochemical properties of powdered and reconstituted pomegranate juice (*Punica Granatum L.*). **Journal of Food Science and Technology**, v. online, p. 1-8, 2010.
111. YU, C.; WANG, W.; YAO, H.; LIUS, H. Preparation of phospholipids microcapsule by spray drying. *Drying Technology*, v. 25, p. 695–702, 2007.
112. ZHOU, Q.; WANG, J. C.; GUO, Z.; YAN, L.; ZHANG, Q.; CHEN, W. Fermentation characteristics and transit tolerance of *Lactobacillus casei* Zhang in reconstituted mare milk during storage. **International Journal of Dairy Technology**, Huntingdon, v. 62, n. 2, p. 249–254, 2009.