



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

NIÉDILA NASCIMENTO ALVES

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

FORTALEZA

2012

NIÉDILA NASCIMENTO ALVES

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

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do título 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

-
- A481d Alves, Niédila Nascimento.
 Desidratação de suco de laranja probiótico por spray-dryer / Niédila Nascimento Alves. – 2012.
 59 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.

NIÉDILA NASCIMENTO ALVES

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

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

Aprovada em ____/____/_____.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Sueli Rodrigues (Orientadora)

Dra. Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Dra. Karina Maria Olbrich dos Santos
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Caprinos

*Aos meus pais Asael e Cléia, pelo incentivo e
por me apoiarem incondicionalmente.*

AGRADECIMENTOS

A Deus por ser o meu tudo, a razão pela qual sou feliz.

À professora Sueli Rodrigues, por sua orientação; sua agilidade e sua admirável capacidade administrativa me inspiram como profissional. Pelo Labiotec, por promover este adorável e raro ambiente de trabalho.

Ao professor José Maria Correia da Costa por seu apoio e pronta recepção às minhas petições.

Ao professor Marcos Rodrigues Amorim, por ser tão disponível e por nunca desprezar as minhas dúvidas.

Ao Dr. Gustavo Adolfo Saavedra Pinto e à Dra. Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo por contribuírem para a melhoria deste trabalho de forma tão gentil e brilhante.

À Dra. Karina Maria Olbrich dos Santos, por prontamente aceitar o convite para participar da banca examinadora.

À CAPES, ao CNPQ e ao INCT Frutos tropicais pelo apoio financeiro.

A todos os companheiros e companheiras de trabalho: Simone, Thaty Vidal, Rayanne, Cris Rabelo, Tati Maciel, Claudinha, Soraya, Mary, Diva, Ana Raquel, Jonas, Imilena, Nair, Tatiana Nunes, Tiago, Rose, Michael, Lívia Nery e Patrícia pessoas que prezo e que juntos fazem do Labiotec uma verdadeira família.

À Thatyane Vidal Fonteles por sua amizade, seu apoio e sua gentileza ao dividir comigo seu conhecimento. Pelos conselhos e ajuda sempre que foi necessário. Certamente, esta dissertação não seria a mesma sem sua ajuda e sem suas percepções brilhantes. Você é uma pessoa em quem me inspiro. Muito obrigada!

À Rayanne Carlos Pascoal por sua grande ajuda e sua dedicação ao dividir comigo o “peso” do spray dryer. Obrigada por dedicar seu tempo, sua compreensão e seu trabalho.

À Claudia Patrícia Fontes por sua indescritível ajuda. Muito obrigada por sua paciência e disponibilidade. Sua opinião formidável sem dúvida está embutida em cada página desta dissertação.

À Ana Raquel Araujo Silva, cujo sobrenome é “Competência”. Sua enorme ajuda foi decisiva para concretizar cada experimentos desta dissertação.

À Katieli Martins Todisco por sua implacável ajuda e por me auxiliar com tanto afinco a desenvolver meu trabalho de forma tão amiga.

À Nair do Amaral Sampaio Neta por me ajudar com suas opiniões e com os duros bastidores das análises de secagem.

À Simone Lopes do Rêgo de Oliveira, por ser a síndica mais legal que conheço. Por sua disponibilidade e seu carinho. Muito obrigada!

À Natália Lima de Oliveira Pascoal por seu apoio e fiel companheirismo sempre presentes na elaboração deste documento e em todas as áreas da minha vida.

À Tatiane Cavalcante Maciel por estar sempre disponível a me ajudar nos mínimos detalhes. Por ser alguém com quem posso contar.

À Soraya de Oliveira Sancho, por suas correções minuciosas e por sua incomparável gentileza.

Ao meu pai, Asael Leandro Alves e à minha mãe, Cleomar Maria Nascimento Alves. Como poderia algum dia agradecer tanto cuidado, apoio, investimento e amor? Jamais conseguiria escrever o quanto lhes sou grata e o quanto os admiro. Esta conquista é de vocês! Obrigada por tudo! Amo vocês!

Aos meus irmãos Telina Cleine Nascimento Alves Guerra, Helena Lorena Nascimento Alves Fragoso e Asael Leandro Alves Filho, pelo apoio e cumplicidade. De fato, a eles também devo esta conquista. Sem eles, não seria a mesma.

"A mente que se abre a uma nova idéia jamais volta ao seu tamanho original."

(Albert Einstein)

RESUMO

Recentemente estudos têm sido desenvolvidos visando à elaboração de produtos probióticos a base de frutas e vegetais. A retirada da água destes produtos por um método de secagem adequado seria de grande vantagem no que diz respeito à diminuição de custos com embalagens, armazenamento e transporte. A secagem por atomização ou *spray drying* tem mostrado grande sucesso para a elaboração de suco em pó. Entretanto, este é um processo de difícil utilização em alimentos ricos em açúcares, devido à baixa temperatura de transição vítrea que estes compostos apresentam. Para solucionar este problema têm se destacado o uso de agentes de secagem como maltodextrina e goma arábica. Embora existam diversos trabalhos envolvendo a secagem de produtos probióticos, a grande maioria está relacionada a produtos lácteos que não são adequados para consumidores com intolerância à lactose e alergia a produtos lácteos. A secagem de suco de laranja fermentado probiótico por atomização é, portanto, uma alternativa inovadora para diversificar o mercado de alimentos probióticos. Dessa forma, esse trabalho teve como objetivo desenvolver um novo produto probiótico a partir da secagem em *spray dryer* de suco de laranja probiótico contendo *Lactobacillus casei* NRRL B-442. A princípio, foi avaliada a necessidade do uso de agente de secagem. Posteriormente, foram testados como agentes de secagem maltodextrina, gelatina, goma arábica e a goma xantana. Após escolhido o agente de secagem, procedeu-se com o estudo da influência da temperatura de entrada do ar de secagem e da concentração de maltodextrina na viabilidade do micro-organismo probiótico, rendimento, tempo de reconstituição, atividade de água, umidade e densidade do produto após a secagem. De acordo com os resultados, o agente de secagem mais adequado foi a maltodextrina. O aumento da concentração de maltodextrina contribuiu para o aumento do rendimento e para a diminuição do tempo de reconstituição do produto. No entanto, a viabilidade diminuiu à medida que se aumentou a quantidade de maltodextrina. O aumento da temperatura influenciou positivamente no rendimento e na reconstituição do produto, contudo, prejudicou a viabilidade. Em todas as condições testadas foram obtidos baixos valores de atividade de água e umidade, conferindo estabilidade microbiológica ao produto.

Palavras-chave: Probióticos. *Spray dryer*. Suco de Laranja.

ABSTRACT

Recently studies have been developed aiming the development of probiotic fruit and vegetables products. In general, these products generally have high water content. Water removal by a suitable method of drying would be of great advantage as regards the costs decrease with storage and packaging. Among the various available methods of drying, spray drying has shown great success for the preparation of juice powder. However, this is a difficult process to apply to foods rich in sugars, due the low glass transition temperature of these compounds. To solve this problem have been emphasized the use of drying agents such as maltodextrin, gum arabic and products of the dairy industry. Although there are several studies involving drying of probiotic products, the vast majority includes dairy products, which are not suitable for consumers with lactose intolerance and allergy to milk products. The drying of orange juice probiotic is therefore an innovative alternative to diversify the market for probiotic foods. Thus, this study aimed to develop a new probiotic product from the spray drying of orange juice containing probiotic *Lactobacillus casei* NRRL B-442. At first, the juice was dried without drying agent. Subsequently, were tested as drying agents, maltodextrin, gelatin, gum arabic and xanthan gum. After chosen the drying agent, was performed the study of influence of inlet temperature and maltodextrin concentration on viability of probiotic microorganism, yield, reconstitution time, water activity, humidity and density of product after drying. According the results, the drying agent more appropriate was maltodextrin. The increase in maltodextrin concentration contributes to the increase in yields and to the decreasing time of reconstitution of the product. However, the viability decreased as increased the amount of maltodextrin. Temperature influenced positively on yield and reconstitution of the product, however, impaired viability. In all conditions tested were obtained low values of water activity and moisture, providing microbial stability to the powder product.

Key words: Probiotics. Spray Dryer. Orange Juice.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Influência da temperatura de entrada do ar de secagem, da maltodextrina e da gelatina no rendimento e viabilidade de <i>L. casei</i>	38
TABELA 2	Influência da adição de maltodextrina, goma arábica e goma xantana em suco de laranja fermentado probiótico na viabilidade de <i>L. casei</i> NRRL B-442 após a secagem por <i>spray dryer</i> a 130 ° C.....	42
TABELA 3	Viabilidade de <i>L. casei</i> em suco de laranja fermentado probiótico após a secagem por <i>spray dryer</i> em UFC por porção de 200 mL.....	43
TABELA 4	Concentração de células viáveis de <i>L. casei</i> em suco de laranja fermentado probiótico após a secagem por <i>spray dryer</i> em UFC por grama de produto em pó.....	44
TABELA 5	Perda de viabilidade de <i>L. casei</i> em suco de laranja fermentado probiótico após a secagem por <i>spray dryer</i>	45
TABELA 6	Influência da quantidade de maltodextrina e da temperatura de entrada do ar de secagem no tempo de reconstituição do suco de laranja fermentado probiótico seco por <i>spray dryer</i>	47
TABELA 7	Influência da quantidade de maltodextrina e da temperatura de entrada do ar de secagem na umidade de suco de laranja fermentado probiótico seco por <i>spray dryer</i>	48
TABELA 8	Influência da quantidade de maltodextrina e da temperatura de entrada do ar de secagem na <i>Aw</i> de suco de laranja fermentado probiótico seco por <i>spray dryer</i>	49
TABELA 9	Influência da quantidade de maltodextrina e da temperatura de entrada do ar de secagem na densidade de suco de laranja fermentado probiótico seco por <i>spray dryer</i>	50

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Aspecto microscópico (2a) e colonial em Agar MRS (2b) de <i>L. casei</i> subsp. <i>rhanminosus</i> NRRL B-442.....	22
FIGURA 2	Diagrama esquemático da secagem em mini <i>spray dryer</i>	22
FIGURA 3	Diagrama esquemático do processo de secagem de uma gotícula em <i>spray dryer</i>	23
FIGURA 4	Mudança do estado vítreo para o cristalino passando pela transição vítrea, onde o produto apresenta-se na forma gomosa. T = Temperatura do sistema e T_g = Temperatura de transição vítrea.....	25
FIGURA 5	Diagrama esquemático da formação de material amorfo em alimentos.....	26
FIGURA 6	Mudanças físicas em um produto submetido à secagem por <i>spray dryer</i> . T_g = Temperatura de transição vítrea, μ = viscosidade e $T_{\text{superfície}}$ = Temperatura da superfície da partícula.....	26
FIGURA 7	Diferentes compartimentos de mini <i>spray dryer</i> Labmaq do Brasil LTDA, modelo MSD 1.0.....	34
FIGURA 8	Produto em pó obtido a partir da atomização sem agente de secagem.	34
FIGURA 9	Produto aderido no vidro de coleta (4a), nas paredes do ciclone (4b) e no interior da câmara de secagem (4c).....	35
FIGURA 10	Influência da adição de maltodextrina e gelatina em suco de laranja fermentado probiótico no rendimento após a secagem por <i>spray dryer</i> a 130 °C.....	39
FIGURA 11	Influência da adição de maltodextrina e gelatina em suco de laranja fermentado probiótico na viabilidade de <i>L. casei</i> NRRL B-442 após a secagem por <i>spray dryer</i> a 130 °C.....	40
FIGURA 12	Influência da quantidade de maltodextrina e da temperatura do ar de secagem de entrada no rendimento de suco de laranja fermentado probiótico seco por <i>spray dryer</i>	46

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
2.1	Suco de laranja.....	16
2.2	Alimentos Funcionais.....	17
2.3	Probióticos.....	18
2.3.1	Histórico e definição.....	18
2.3.2	Efeitos benéficos e mecanismos de ação.....	19
2.3.3	Micro-organismos probióticos.....	20
2.4	Secagem por <i>spray dryer</i>.....	22
2.4.1	Atomização de sucos de frutas.....	24
2.4.2	Atomização de alimentos probióticos.....	27
3	METODOLOGIA.....	29
3.1	Obtenção do <i>L. casei</i> NRRL B-442.....	29
3.2	Ativação do <i>L. casei</i> NRRL B-442.....	29
3.3	Formulação do suco de laranja.....	29
3.4	Obtenção do suco de laranja probiótico.....	29
3.5	Secagem do suco de laranja fermentado probiótico.....	30
3.5.1	Escolha do agente de secagem.....	30
3.5.2	Variação da concentração de maltodextrina e da temperatura de secagem.....	30
3.6	Análise da viabilidade do <i>L. casei</i> NRRL B-442.....	31
3.6.1	Viabilidade do <i>L. casei</i> antes da secagem.....	31
3.6.2	Viabilidade do <i>L. casei</i> no produto em pó.....	31
3.7	Análises físicas no suco de laranja fermentado probiótico em pó.....	32
3.7.1	Análise de sólidos solúveis totais (SST).....	32
3.7.2	Cálculo do rendimento.....	32
3.7.3	Análise do tempo de reconstituição.....	32
3.7.4	Análise da umidade.....	33
3.7.5	Análise da atividade de água (<i>A_w</i>).....	33
3.7.6	Análise da densidade.....	33
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34

4.1	Atomização do suco de laranja probiótico sem agentes de secagem.....	34
4.2	Escolha do agente de secagem.....	37
4.2.1	Avaliação da influência da maltodextrina associada à gelatina no rendimento e na viabilidade de <i>L. casei</i> em suco de laranja fermentado antes e após a secagem.....	37
4.2.2	Avaliação da influência da maltodextrina associada à goma arábica e goma xantana no rendimento e na viabilidade de <i>L. casei</i> em suco de laranja fermentado probiótico.....	41
4.3	Influência da temperatura e da concentração de maltodextrina na viabilidade e parâmetros físicos do pó.....	42
4.3.1	Efeito sobre a viabilidade de <i>L. casei</i> após a secagem.....	42
4.3.2	Efeito da variação da temperatura e da quantidade de maltodextrina sobre o rendimento.....	45
4.3.3	Efeito da variação da temperatura e da quantidade de maltodextrina sobre o tempo de reconstituição.....	47
4.3.4	Efeito da variação da temperatura e da quantidade de maltodextrina sobre a umidade.....	48
4.3.5	Efeito da variação da temperatura e da quantidade de maltodextrina sobre a atividade de água (<i>A_w</i>).....	48
4.3.6	Efeito da variação da temperatura e da quantidade de maltodextrina sobre a densidade.....	50
5	CONCLUSÕES.....	51
	REFERÊNCIAS.....	52

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a população mundial tem visto os alimentos não só como um veículo de nutrientes essenciais, que lhes proporcione o desenvolvimento saudável do organismo, mas também como uma via de manutenção da saúde, de forma que o consumidor vem demonstrando um grande interesse pelo consumo de alimentos saudáveis que possam promover o seu bem-estar (ADA, 2008; BADARÓ *et al.*, 2009). Embora a conscientização da população tenha se intensificado, desde muito tempo o ser humano tem notado a capacidade que os alimentos têm de prevenir doenças e serem usados como forma de tratamento (RANADHEERA; ADAMS; BAINES, 2010).

A partir do conhecimento do efeito benéfico que alimentos promovem ao organismo surge o conceito de alimentos funcionais. Estes podem ser definidos como alimentos semelhantes em aparência aos convencionais, que devem ser consumidos como parte da dieta, sendo capazes de promover efeitos benéficos à saúde através de mecanismos não previstos na nutrição usual (MACHADO, 2007).

Dentre os alimentos funcionais, destacam-se os probióticos, os quais são definidos como micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (FAO/WHO, 2002). São várias as evidências do potencial de aplicação clínica dos probióticos na prevenção e tratamento de doenças do trato gastrointestinal, respiratório e urogenital (RANADHEERA; BAINES; ADAMS, 2010).

A grande maioria dos produtos probióticos é de origem exclusivamente láctea, incluindo leites fermentados, iogurtes e queijos (BADARÓ *et al.*, 2009; FARIA *et al.*, 2006). Em pesquisas recentes novos produtos probióticos têm sido desenvolvidos a partir de suco de frutas, como o suco de melão, caju, abacaxi e laranja (COELHO, 2009; COSTA, 2011; FONTELES *et al.*, 2011; PEREIRA; MACIEL; RODRIGUES, 2011; SILVEIRA *et al.*, 2010)

Embora a produção de sucos de frutas probióticos seja realizada com sucesso, em geral, estes são alimentos com alto teor de água. A retirada da água por um método de secagem adequado seria neste caso de grande vantagem no que diz respeito à diminuição de custos com armazenamento e embalagens, facilitando assim, sua manipulação e distribuição. Com a diminuição da atividade de água também ocorre um aumento no tempo de vida útil do produto, uma vez que são inibidas muitas reações enzimáticas e atividades microbianas (CHEN; PATEL, 2008; GOULA; ADAMOPOULOS, 2010; TANAKA, 2007).

Dentre os diversos métodos de secagem disponíveis, a secagem por atomização ou *spray drying* tem mostrado grande sucesso para a elaboração de sucos em pó (GOULA;

ADAMOPOULOS, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2007; ROUSTAPOUR *et al.*, 2009). Entretanto, a secagem por atomização é um processo de difícil utilização em alimentos ricos em açúcares, como mel, xarope de lactose e sucos de frutas e vegetais (BOONYAI; HOWES; BHANDARI, 2006).

Os sucos de frutas possuem uma grande quantidade de ácidos orgânicos e de açúcares de baixo peso molecular em sua composição, os quais apresentam uma faixa de temperatura de transição vítrea (T_g) muito baixa (62, 31 e 5 °C para sacarose, glicose e frutose, respectivamente) (BHANDARI; DATTA; HOWES, 1997) . Em um produto, quanto menor for a T_g , mais este estará sujeito a sofrer o fenômeno de *stickiness*, que está diretamente associado à tendência de alguns materiais à aglomeração e/ou adesão quando em contato com uma superfície durante e após a secagem (CHEN; PATEL, 2008; VERDURMEN *et al.*, 2006). Como resultado, há uma diminuição considerável do rendimento, problemas operacionais, perdas na qualidade e dificuldades de manipulação e reconstituição do pó advindo desses alimentos (GOULA; ADAMOPOULOS, 2010; ROUSTAPOUR *et al.*, 2010).

Para solucionar este problema várias medidas vêm sendo empregadas. Dentre elas têm se destacado o uso de agentes de secagem como maltodextrina, goma arábica, amido, caseinato de sódio e derivados da indústria láctea (CHEGINI; GHOBADIAN, 2007; GOULA; ADAMOPOULOS, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2007).

Diversos estudos têm mostrado sucesso na manutenção de micro-organismos probióticos através da secagem por *spray dryer* (ANAL; SINGH, 2007; GOLOWCZYC *et al.*, 2011; REDDY; MADHU; PRAPULLA, 2009; RIVEROS; FERRER; BÓRQUEZ, 2009), assim como, também se encontram na literatura trabalhos envolvendo a secagem de alimentos probióticos, tais como bebida fermentada de soja e iogurte (KEARNEY *et al.*, 2009; WANG; YU; CHOU, 2004). A secagem de alimentos probióticos por atomização pode ser, portanto, uma forma alternativa para a conservação de suco de laranja probiótico, diversificando mais ainda seu emprego e forma de consumo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Suco de laranja

A laranja é uma fruta com significativo valor comercial, sendo largamente consumida no mundo inteiro, devido seu alto valor nutricional. O consumo de suco de laranja, por sua vez, tem apresentado um significativo crescimento desde a Segunda Guerra Mundial, onde se intensificou a produção de suco de laranja concentrado. Nos últimos anos, os Estados Unidos e o Canadá têm se apresentado como os principais consumidores, seguidos pela Europa e outros países (SPREEN; JAUREGUI, 2009).

O Brasil é o maior produtor e exportador mundial do fruto. Com uma área plantada de 820.000 hectares, são colhidas anualmente no País mais de 18 milhões de toneladas de laranja, o que corresponde a aproximadamente 30% da safra mundial. Em seguida ao Brasil estão os Estados Unidos, China e União Européia, com parcelas em cerca de 15, 12 e 12%, da produção mundial, respectivamente (MAPA, 2011).

O mercado da laranja tem crescido substancialmente no Brasil. De acordo com projeções do Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA), é estimado um crescimento de 0,89% na taxa anual de produção de laranja, o equivalente a uma produção de 20,5 milhões de toneladas da fruta prevista para 2018/2019, sendo que uma grande parcela (95,5%) é destinada à produção de suco. Atualmente, 60% da produção mundial é de origem brasileira, de forma que o Brasil é o principal exportador do produto (MAPA, 2011).

Aproximadamente 70% da produção total de suco de laranja são destinados à produção de concentrado congelado (*Frozen Concentrated Orange Juice – FCOJ*). 97% do FCOJ é exportada, atendendo 80% do comércio internacional, gerando 400 mil empregos diretos e três milhões de empregos indiretos, movimentando assim, cerca de 1,5 bilhões de dólares anualmente (COLTRO *et al.*, 2009).

2.2 Alimentos Funcionais

Desde muito tempo o ser humano tem observado a capacidade que os alimentos têm de prevenir doenças e serem usados como forma de terapia. Hipócrates, por exemplo, há mais de 2.500 anos já incentivava o uso dos alimentos para o tratamento de doenças assim como outros cientistas, que relacionaram a ingestão de leite fermentado com a cura de algumas desordens do sistema digestivo (AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION, 2009; RANADHEERA; ADAMS; BAINES, 2010).

A partir deste tipo de relação alimento-saúde, por volta de 1980, surge no Japão o conceito de alimentos funcionais (SIRÓ *et al.*, 2008). Atualmente, as definições atribuídas ao termo “alimentos funcionais” são diversas, variando entre os profissionais da área e de acordo com a legislação de diferentes países (AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION, 2009; MORAES; COLLA, 2006; SIRÓ *et al.*, 2008).

Nos estados Unidos, embora os alimentos funcionais não sejam reconhecidos como uma categoria regulamentada pela FDA (*Food and Drug Administration*), diversos órgãos relacionados a alimentos e nutrição têm procurado apresentar uma definição adequada ao termo. A ADA (*American Dietetic Association*), por exemplo, afirma que “todos os alimentos são funcionais em algum nível fisiológico”, enquanto que o IFIC (*International Food Information Council*) considera alimento funcional todo alimento ou componente alimentar que promova benefícios à saúde além dos já promovidos pela dieta usual (AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION, 2009).

O sistema de saúde do Canadá, por sua vez, define alimentos funcionais como alimentos similares na aparência ou, podendo ser, um alimento convencional, consumido como parte da dieta habitual, tendo benefícios fisiológicos comprovados e/ou sendo capaz de reduzir o risco de doenças crônicas, além das funções básicas da nutrição. De forma semelhante, na Europa, a *European Commission's Concerted Action on Functional Food Science* (FuFoSE) considera que um alimento somente pode ser definido com funcional se, juntamente com os impactos já causados pela nutrição normal, este tenha efeitos benéficos em uma ou mais funções do organismo humano, de forma que promova uma melhora no estado de saúde geral e físico e/ou diminua riscos de doenças. Porém, alimentos em cápsulas ou pílulas não são considerados funcionais, mas somente alimentos na forma natural, que demonstram seus efeitos quando consumidos em quantidades que normalmente seriam ingeridas na dieta usual (AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION, 2009; SIRÓ *et al.*, 2008).

O Japão é o único país que reconhece alimentos funcionais como uma categoria separada de alimentos, possuindo o mercado de alimentos funcionais mais desenvolvido do mundo. Os alimentos funcionais são conhecidos pelos japoneses como “Alimento para uso específico de saúde” (*Foods for Specified Health Use – FOSHU*). Estes alimentos são compostos de ingredientes funcionais que afetam a estrutura e/ou função do corpo, sendo usados para manter ou regular condições específicas de saúde, como por exemplo, as relacionadas com o sistema gastrointestinal, pressão sanguínea e os níveis de colesterol (AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION, 2009; MORAES; COLLA, 2006).

2.3 Probióticos

2.3.1 Histórico e definição

Os alimentos funcionais que contêm micro-organismos vivos são denominados probióticos. Estes são definidos pela Organização Mundial de Saúde como “micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas conferem benefícios à saúde do hospedeiro” (FAO/WHO, 2002).

A ideia de micro-organismos promoverem efeitos benéficos ao organismo foi introduzida nos primórdios do século XX, quando o cientista russo Elie Metchnikoff relacionou o consumo de leite fermentado com o longo tempo de vida de camponeses búlgaros. De acordo com a hipótese de Metchnikoff, os lactobacilos presentes no leite fermentado proporcionariam condições desfavoráveis a outros micro-organismos que poderiam produzir algum efeito tóxico ao hospedeiro (BADARÓ *et al.*, 2009; MORAIS; JACOB, 2006; RANADHEERA; BAINES; ADAMS, 2010).

Em 1965 o termo “probiótico” foi utilizado pela primeira vez por Lilley e Stillwell para descrever micro-organismos vivos que apresentavam algum tipo de benefício à saúde, atuando principalmente no balanço microbiano intestinal (OLIVEIRA, 2002).

O trato gastrointestinal é um microsistema cinético, que quando em equilíbrio, possibilita o desempenho normal das funções fisiológicas do hospedeiro. No entanto, fatores como a ingestão de antimicrobianos e uma dieta pobre em determinados nutrientes, podem quebrar este equilíbrio, favorecendo a prevalência de micro-organismos prejudiciais e potencialmente patogênicos, o que resultará algum tipo de desordem intestinal aguda e/ou crônica (BADARÓ *et al.*, 2009; SAAD, 2006).

A partir do conhecimento da microbiota intestinal e suas interações, houve o desenvolvimento de estratégias alimentares que favorecessem a manutenção e o desenvolvimento da microbiota normal presente no intestino. Estas estratégias incluem a introdução de células bacterianas benéficas no organismo através de alimentos contendo probióticos, aumentando assim, o número de micro-organismos promotores da saúde no trato gastrointestinal (BADARÓ *et al.*, 2009).

Para que um micro-organismo seja considerado probiótico ele deve apresentar algumas características indispensáveis, como ser reconhecido como seguro (GRAS – *Generally Reconized as Safe*), demonstrar atividade antagonista contra bactérias patogênicas, apresentar benefícios à saúde já comprovados e ser capaz de manter sua viabilidade em níveis satisfatórios durante o processamento e todo o prazo de validade do produto (GOLOWCZYC *et al.*, 2011; LIN *et al.*, 2007; MORAES; COLLA, 2006; SAAD, 2006). Além disso, uma vez que a ação dos micro-organismos probióticos será efetivada principalmente no intestino, para que o efeito benéfico seja garantido, as células probióticas devem ser capazes de sobreviver ao trato gastrointestinal, ou seja, à acidez do suco gástrico no estômago e a presença de sais biliares e enzimas digestivas no intestino, mantendo sua viabilidade e atividade metabólica (BADARÓ *et al.*, 2009; SAAD, 2006).

Em relação ao consumo, para garantir o efeito benéfico contínuo, os probióticos devem ser ingeridos regularmente e em quantidades adequadas. Alguns autores recomendam valores mínimos variando entre 10^6 e 10^8 UFC/mL. No entanto, não existe um consenso sobre a quantidade mínima de probióticos que deve ser ingerida. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) recomenda uma quantidade mínima de 10^8 a 10^9 UFC de micro-organismo probiótico por porção de alimento (ANVISA, 2008; DONKOR *et al.*, 2007; MESTRY; MUJUMDAR; THORAT, 2011; SAULNIER *et al.*, 2009).

2.3.2. Efeitos benéficos e mecanismos de ação

São várias as evidências do potencial da aplicação clínica dos probióticos no tratamento de doenças do trato gastrointestinal, respiratório e urogenital (RANADHEERA; BAINES; ADAMS, 2010). De forma geral, os probióticos atuam na microbiota intestinal promovendo o aumento da resistência do organismo contra patógenos através de efeitos antagônicos, competição e efeitos imunológicos. Isto resulta da competição da microbiota benéfica que é fortalecida pela ingestão dos probióticos, e conseqüente enfraquecimento da microbiota prejudicial (SAAD, 2006). As conseqüências práticas disto são vários efeitos

benéficos ao organismo que são amplamente relatados. Entre eles, destacam-se: fortalecimento do sistema imune, prevenção de câncer, redução da intolerância à lactose (através da promoção da digestão da lactose), redução do nível de colesterol sérico e pressão sanguínea, melhoria da absorção de minerais, produção de vitaminas, alívio da constipação, manutenção da microbiota intestinal normal, proteção contra patógenos através da promoção da resistência gastrointestinal à colonização por patógenos e da produção de ácidos acético e láctico, de bacteriocinas e de outros compostos antibacterianos (DONKOR *et al.*, 2006; GUO, 2010; RANADHEERA; BAINES; ADAMS, 2010; SAAD, 2006; ZENG; PAN; GUO, 2010), estabilização da barreira da mucosa intestinal, prevenção de diarreias, melhora da diarreia infantil e da diarreia associada ao uso de antibióticos (BADARÓ *et al.*, 2009).

De acordo com Saad (2006), os efeitos benéficos dos probióticos são desempenhados através de três possíveis mecanismos de ação. O primeiro deles é conhecido como “exclusão competitiva”. Este é o principal mecanismo de ação das bactérias probióticas e consiste na supressão do número de células patogênicas através da produção de compostos com atividade antimicrobiana (principalmente as bacteriocinas), competição por nutrientes e competição por sítios de adesão. Além disto, ocorre o estímulo dos mecanismos naturais de defesa do organismo contra patógenos. Os demais mecanismos são: alteração do metabolismo microbiano através do aumento ou diminuição da atividade enzimática; estímulo da imunidade do hospedeiro através do aumento dos níveis de anticorpos e o aumento da atividade dos macrófagos.

2.3.3 Micro-organismos probióticos

As bactérias ácido-láticas formam a classe mais representativa dos micro-organismos probióticos, tanto no mercado alimentício quanto no farmacêutico, sendo por isso amplamente utilizadas em produtos com fins terapêuticos (FONTELES, 2011; LIN *et al.*, 2007; SAAD, 2006). Nesta classe, se destacam os gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, que compõem a maioria da microbiota normal de um intestino saudável. Várias de suas espécies têm sido amplamente estudadas e empregadas na elaboração de alimentos probióticos devido a sua capacidade comprovada de modulação do sistema imunológico e alívio ou prevenção de diversos tipos de desordens intestinais (BAO *et al.*, 2010; GOLOWCZYC *et al.*, 2011; KOMATSU; BURITI; SAAD, 2008; MORAES; COLLA, 2006; RANADHEERA; BAINES ADAMS, 2010; SAAD, 2006; SANTOS *et al.*, 2008, SIRÓ *et al.*,

2008). Em menor escala, bactérias do gênero *Enterococcus* e *Streptococcus* também têm sido utilizadas como probióticos (FONTELES, 2011; SAAD, 2006).

As bifidobactérias foram isoladas pela primeira vez por Tissier, no século XIX. Em geral, o gênero *Bifidobacterium* é formado por bacilos curtos, curvados ou bifurcados, Gram-positivos, não esporulados, deprovidos de flagelos, catalase negativos e anaeróbios (BADARÓ *et al.*, 2009). Apenas uma parte das espécies que compõem este gênero é aplicada para a produção de probióticos. São elas: *B. bifidum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. lactis*, *B. animalis*, *B. longum* e *B. thermophilum* (SAAD, 2006).

O gênero *Lactobacillus* é formado por espécies de bactérias filogeneticamente diversas. De acordo com o *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Manual Bergey de Sistemática Bacteriológica) trata-se de um grupo heterogêneo formado por bastonetes regulares Gram-positivos, e não formadores de esporos (BURITI; SAAD, 2007). As espécies pertencentes a este gênero crescem em temperaturas que variam de 2 a 53 °C, com valores ótimos entre 30 e 40 °C. São aerotolerantes e se desenvolvem em valores de pH a partir de 5,0, com crescimento ótimo entre 5,5 e 6,2 (FONTELES, 2011).

Este gênero inclui cerca de 80 espécies conhecidas, as quais são divididas em três grupos de acordo com suas características fermentativas. Dessa forma, os Lactobacilos podem ser classificados em homofermentativos obrigatórios, heterofermentativos facultativos e heterofermentativos obrigatórios (BURITI; SAAD, 2007). As principais espécies probióticas representantes dos gêneros *Lactobacillus* estão distribuídas nestes três grupos. São elas: *L. casei*, *L. paracasei*, *L. rhamnosus*, *L. acidophilus*, *L. helveticus*, *L. fermentum*, *L. reuteri*, *L. johnsonii*, *L. plantarum* e *L. salivarius* (SAAD, 2006).

O grupo dos *Lactobacillus casei* é representado pelas espécies *Lactobacillus casei* (*L. casei*), *Lactobacillus paracasei*, e *Lactobacillus rhamnosus* (BURITI; SAAD, 2007; FONTELES, 2011). Estas espécies apresentam comportamento fisiológico e necessidades nutricionais muito semelhantes. Normalmente, apresentam divisão em subespécies, no entanto, a classificação taxonômica ainda é bastante confusa, uma vez que não há padronização oficial para as requisições referentes à nomenclatura dessas espécies. Além de ser o grupo mais estudado, é também, o mais aplicado na indústria de alimentos (BURITI *et al.*, 2005; BURITI; SAAD, 2007).

De acordo com o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (ARS – *Agricultural Research Service*), o *Lactobacillus casei* NRRL B-442, também denominado de *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* e *Lactobacillus helveticus*, é um bacilo curto, Gram-positivo (Figura 2a), produtor de ácido nicotínico, ácido fólico e riboflavina. Apresenta

crescimento ótimo a 37° C e seu tempo de crescimento depende do meio de cultura. Em MRS (Man Rogosa e Sharpe) forma colônias redondas, cor branco cremoso, com diâmetro variando em torno de 0,9 a 1,5 mm (Figura 2b) (FONTELES, 2011). Esta cepa é não-patogênica e segura do ponto de vista alimentar e apresenta bom crescimento em substratos alimentares (COELHO, 2009).

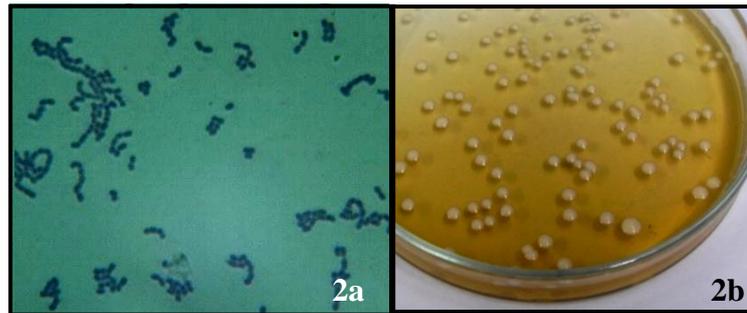


Figura 1 – Aspecto microscópico (2a) e colonial em Agar MRS (2b) de *L. casei* subsp. *rhanminusus* NRRL B-442. Fonte: Fonteles (2011).

2.4 Secagem por *spray dryer*

A secagem por atomização, ou *spray dryer*, é um processo onde minúsculas partículas de líquido são geradas a partir de um bico atomizador, entrando em seguida, em contato com ar quente em uma câmara de secagem, evaporando quase instantaneamente. Em seguida, as partículas secas são “arrastadas” através de um ciclone, até um recipiente de coleta (Figura 2) (ORDÓÑEZ, 2005).

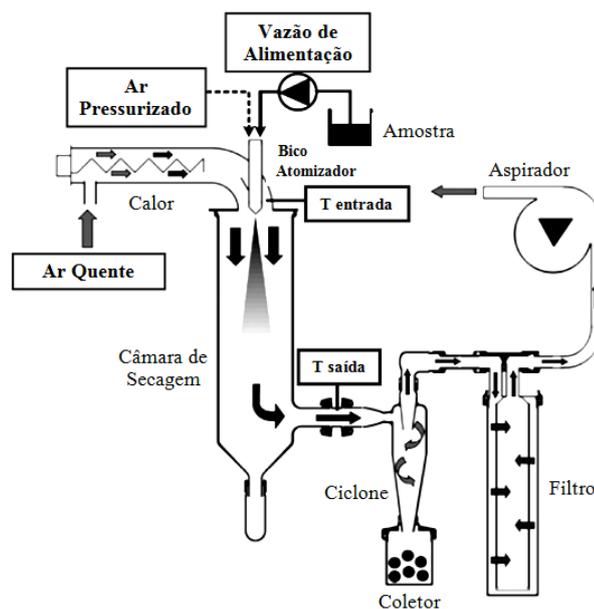


Figura 2 – Diagrama esquemático da secagem em mini *spray dryer*. Fonte: Adaptado de BÜRKI *et al.* (2011).

Durante a secagem, à medida que a água evapora, os solutos presentes na gotícula começam a ficar mais concentrados. O contato com o ar quente durante a passagem da gotícula pela câmara de secagem faz com que o estado físico do produto mude de líquido para uma forma de xarope concentrado e finalmente para a forma sólida (BHANDARI, HOWES, 1999) (Figura 3).

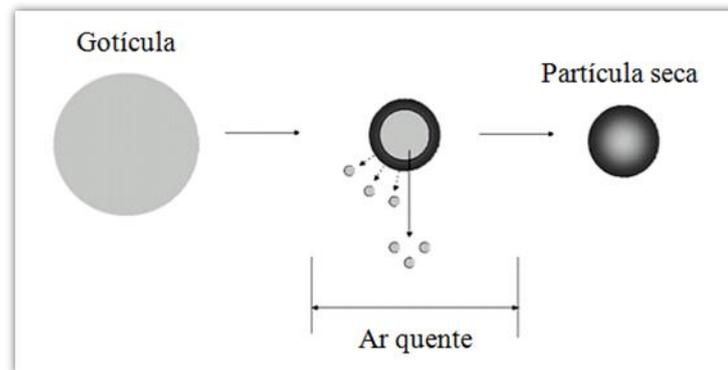


Figura 3 – Diagrama esquemático do processo de secagem de uma gotícula em *spray dryer*. Adaptado de CHEN e PATEL (2008).

Desta forma, a secagem por *spray dryer* permite a secagem de alimentos muito sensíveis ao calor, pois, embora as gotículas sejam submetidas a altas temperaturas, o risco de superaquecimento destas é mínimo. Isto se deve à grande área de superfície da gotícula e à alta diferença de temperatura entre esta e o ar quente, o que faz com que a secagem seja quase instantânea. Este fenômeno associado com o resfriamento causado pela evaporação da água permite que a temperatura no interior da gotícula permaneça baixa, conservando assim as características nutricionais e organolépticas do produto (ORDÓÑEZ, 2005; ROUSTAPOUR *et al.*, 2009; TURCHIULI *et al.*, 2011).

Assim, esta técnica é o meio de secagem de alimentos mais empregado, abrangendo desde pequenas até largas produções de uma grande variedade de produtos (BOONYAI; HOWES; BHANDARI, 2006). Estes podem ser classificados em dois grupos: *sticky* e *não-sticky*. Exemplos de *não-sticky* são os lácteos, produtos encapsulados e ovos em pó, os quais podem ser atomizados utilizando um *spray dryer* de design simples e o produto obtido é relativamente pouco higroscópico e fluido, enquanto que os alimentos *sticky* (sucos de frutas e vegetais, mel e lactose) são difíceis de secar sob condições normais (BHANDARI; DATTA; HOWES, 1997; GOULA; ADAMOPOULOS, 2010; TAN *et al.*, 2011).

Desta forma, grande parte dos alimentos secos por *spray dryer* contém ingredientes de origem láctea, como leite em pó desnatado, leite em pó integral, proteínas do

soro de leite, creme em pó, iogurte em pó, misturas para sorvete, queijo em pó, etc. como constituintes (CHEN; PATEL, 2008).

2.4.1 Atomização de sucos de frutas

Em geral, os sucos de frutas são alimentos com alta porcentagem de água. A retirada desta por um método de secagem adequado seria de grande vantagem no que diz respeito à diminuição de custos com transporte, armazenamento e embalagens, facilitando sua manipulação e distribuição (GOULA; ADAMOPOULOS, 2010). Com a retirada da água, ocorre também o aumento do tempo de vida útil e estabilidade do produto, uma vez que a atividade de água deste diminui, resultando na inibição de grande parte das reações enzimáticas e das atividades microbianas que normalmente estariam presentes no produto não submetido à secagem. Além disso, a produção de sucos de frutas em pó possibilita a oferta de um novo produto de boa qualidade, prático e saudável no mercado (CHEN; PATEL, 2008; TANAKA, 2007; TONON *et al.*, 2009).

A secagem por *spray dryer* tem mostrado sucesso para a elaboração de suco de frutas em pó. Podem ser citados como exemplos de sucos em pó atomizados o suco de lima (ROUSTAPOUR; HOSSEINALIPOUR; GHOBADIAN, 2006), suco de laranja (CHEGINI; GHOBADIAN, 2007; GOULA; ADAMOPOULOS, 2010), suco de açaí (TONON *et al.*, 2009), suco de melão cantaloupe (SOLVAL *et al.*, 2012), suco de maracujá e abacaxi (OLIVEIRA *et al.*, 2007) e suco de manga (CANO-CHAUCA *et al.*, 2005).

Entretanto a atomização desses alimentos é bastante complexa, uma vez que os sucos de frutas apresentam comportamento *sticky* devido à presença de grande quantidade de ácidos orgânicos (cítrico, málico e tartárico) e de açúcares de baixo peso molecular (sacarose, glicose e frutose) em sua composição (TAN *et al.*, 2011), os quais apresentam uma faixa de temperatura de transição vítrea (T_g) muito baixa, o que resulta em uma série de fenômenos indesejados durante a secagem (JAYASUNDERA *et al.*, 2011).

A temperatura de transição vítrea pode ser definida como sendo a temperatura na qual uma matriz amorfa passa de um estado vítreo para um estado gomoso (BHANDARI; DATTA; HOWES, 1997; COLLARES; KIECKBUSCH, 2002; TONON *et al.*, 2009). Esta transição caracteriza-se por várias transformações que surgem no produto (aumento do volume livre e do calor específico e o decréscimo da viscosidade, por exemplo), as quais resultam em transformações estruturais dependentes do tempo, como o fenômeno de

stickness, o colapso e a cristalização durante o processamento e estocagem do alimento (BHANDARI; DATTA; HOWES, 1997; TONON *et al.*, 2009).

Normalmente, uma única temperatura é dada para referenciar este fenômeno. No entanto, esta passagem do estado vítreo para o gomoso é uma transição de segunda ordem e ocorre em uma determinada faixa de temperatura (BHANDARI, HOWES, 1999; COLLARES; KIECKBUSCH; FINZER, 2002).

O estado vítreo é o estado amorfo ou metaestável não-cristalino de um sólido, o que pode ser considerado uma solução-sólida. A remoção do meio disperso (água, por exemplo), a fusão do material durante o resfriamento, ou o super resfriamento de um alimento, pode levar à formação de um material amorfo (BHANDARI, HOWES, 1999; COLLARES; KIECKBUSCH; FINZER, 2002; ROOS, 1995). No caso da remoção do meio disperso através da secagem, dependendo das condições em que esta é realizada, uma quantidade significativa de produto seco pode permanecer no estado amorfo, principalmente devido ao tempo insuficiente para a cristalização ocorrer. O produto seco obtido também pode conter algum material na forma cristalina. No entanto, isto será influenciado pelas condições de processo, composição e propriedades de cada ingrediente presente (BHANDARI, HOWES, 1999). A Figura 4 mostra a passagem de um material do estado vítreo para o gomoso, formando um produto pegajoso, com ocorrência de material cristalino.

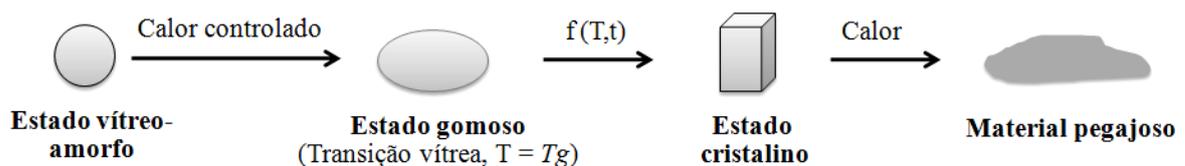


Figura 4 – Mudança do estado vítreo para o cristalino passando pela transição vítrea, onde o produto apresenta-se na forma gomosa. T = Temperatura do sistema e T_g = Temperatura de transição vítrea. Fonte: Adaptado de Bhandari Datta e Howes (1997).

Através de um diagrama de estado, o qual representa o estado físico de materiais como uma função da concentração, temperatura, tempo e pressão, pode-se melhor entender a transição vítrea (COLLARES; KIECKBUSCH; FINZER, 2002). A Figura 5 mostra um diagrama de estado, onde são ilustradas as mudanças que ocorrem no material em função da temperatura de transição vítrea.

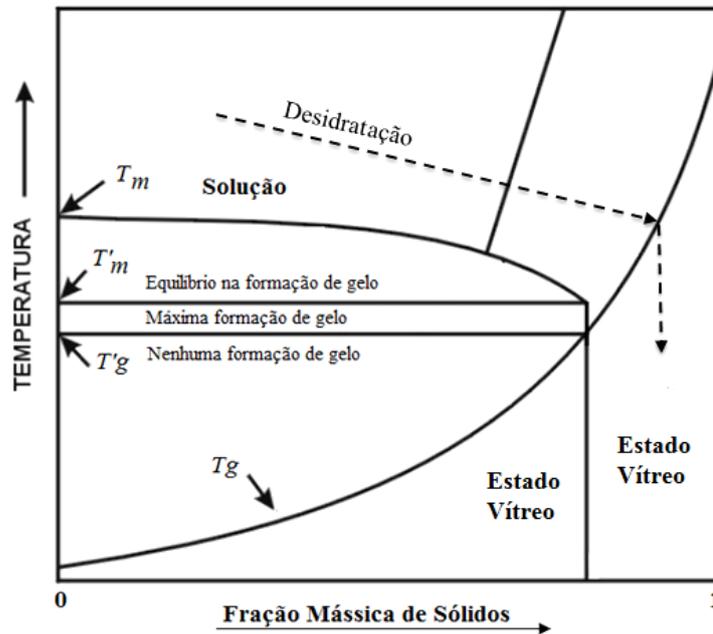


Figura 5 – Diagrama esquemático da formação de material amorfo em alimentos. Fonte: Adaptado de Roos (1995).

O fenômeno de *stickiness* está diretamente associado à tendência de alguns materiais à aglomeração e/ou aderirem quando em contato com uma superfície, durante e após a secagem (CHEN; PATEL, 2008; VERDURMEN *et al.*, 2006), sendo a T_g o principal indicador do comportamento *sticky* de alimentos ricos em açúcares (BHANDARI; DATTA; HOWES, 1997). Este fenômeno ocorre quando o material atinge a viscosidade crítica (10^7 Pa.s), a qual pode ser obtida em temperaturas de 10 a 20° C acima da T_g . Ao atingir a viscosidade crítica, o produto pode se apresentar na forma de xarope, mesmo com baixa umidade. Neste caso, a superfície da gotícula permanece plástica, resultando em aderência das partículas de pó nas paredes do equipamento, ou entre si (BHANDARI, HOWES, 1999; TURCHIULI *et al.*, 2011) (Figura 6).

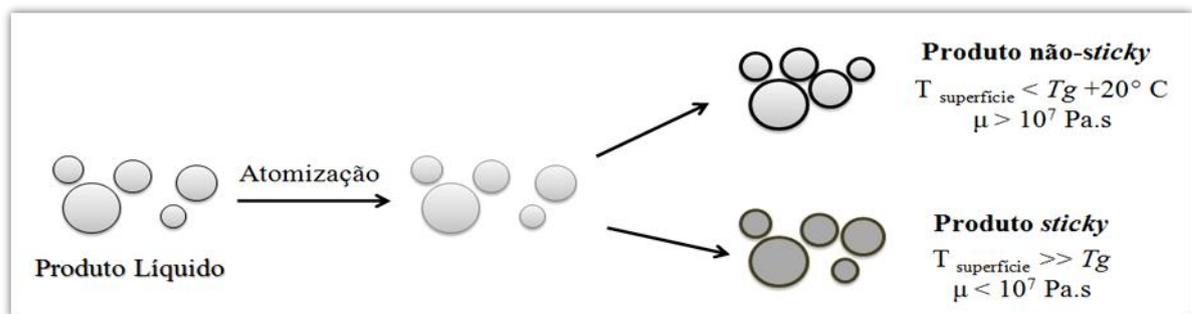


Figura 6 – Mudanças físicas em um produto submetido à secagem por *spray dryer*. T_g = Temperatura de transição vítrea, μ = viscosidade e $T_{\text{superfície}}$ = Temperatura da superfície da partícula. Fonte: Adaptado de Bhandari e Howes (1999).

Quando a superfície da gotícula atinge o estado *stick*, ou seja, atinge uma temperatura maior que a do *sticky-point* (WANG; LANGRISH, 2009), colisões com alguma superfície, como as paredes do equipamento ou mesmo outras partículas, sejam elas *sticky* ou secas, podem levar a adesão de material dependendo da velocidade, força, ângulo e tempo de contato. À medida que essa colisão atinge as paredes do equipamento, ocorre a deposição de material (TURCHIULI *et al.*, 2011; WANG; LANGRISH, 2009) e como resultado há uma diminuição considerável do rendimento, problemas operacionais, perdas na qualidade e dificuldades de manipulação e reconstituição do produto em pó (GOULA; ADAMOPOULOS, 2010; ROUSTAPOUR *et al.*, 2010). Isto implica em prejuízos econômicos, limitando a aplicação da secagem por *spray dryer* na indústria alimentícia (JAYASUNDERA *et al.*, 2011).

Diversas medidas têm sido empregadas para solucionar o problema do *stickness*. Dentre elas destacam-se o uso de equipamentos com design modificado, operando a não mais do que 20° C acima da T_g do produto (BHANDARI; DATTA; HOWES, 1997) e o uso de agentes de secagem (CHEGINI; GHOBADIAN, 2007; LANGRISH; CHAN; KOTA, 2007).

Normalmente têm sido usados como aditivos de secagem substâncias inertes, em geral de alto peso molecular, como maltodextrina, goma arábica, amido, caseinato de sódio, derivados da indústria láctea, e outros agentes *anticaking* (fosfato tricálcico, dióxido de silício, silicatos e fosfatos em geral, sais de ácido esteárico e carboidratos modificados). Estes compostos são capazes de aumentar a T_g , evitar o fenômeno de *stickness* reduzir a higroscopicidade e termoplasticidade, e prevenir adesão das partículas nas paredes do equipamento sem alterar negativamente a qualidade e solubilidade do produto final (CHEGINI; GHOBADIAN, 2007; GOULA; ADAMOPOULOS, 2010; JAYA; DAS, 2004; OLIVEIRA *et al.*, 2007). Estes são, portanto, alternativas para a secagem de alimentos ricos em componentes de baixa T_g , como os sucos de frutas.

2.4.2 Atomização de alimentos probióticos

Devido ao crescente número de consumidores interessados em melhorar sua saúde através da dieta, a indústria alimentícia dispõe atualmente de uma grande variedade de alimentos funcionais (ADA, 2008).

Em se tratando de probióticos, a grande maioria destes é de origem exclusiva láctea, incluindo leites fermentados, iogurtes e queijos (BADARÓ *et al.*, 2009; FARIA *et al.*, 2006). Em pesquisas recentes novos produtos probióticos têm sido desenvolvidos a partir do

suco de frutas, como o melão, caju, abacaxi e laranja (COELHO, 2009; COSTA, 2011; FONTELES, 2011; PEREIRA; MACIEL; RODRIGUES, 2011; SILVEIRA *et al.*, 2010).

Embora existam diversos trabalhos envolvendo a secagem de produtos probióticos, a grande maioria inclui derivados de leite (BURITI *et al.*, 2005; KEARNEY *et al.*, 2009). No entanto a demanda por alimentos probióticos não lácteos tem aumentado consideravelmente nos últimos anos, uma vez que estes alimentos são adequados para consumidores com intolerância à lactose e alergia a produtos lácteos e crianças com galactosemia (MESTRY; MUJUMDAR; THORAT, 2011; KUN *et al.*, 2008).

Atualmente, poucos são os relatos de alimentos não lácteos probióticos atomizados, dentre eles, podem citados como exemplo o leite de soja probiótico (WANG; YU; CHOU, 2004) e o suco misto de cenoura e melancia (MESTRY; MUJUMDAR; THORAT, 2011). No entanto, apesar destes exemplos, ainda poucos são os trabalhos envolvendo a secagem de alimentos não lácteos por *spray dryer*.

A secagem de suco de laranja fermentado probiótico por atomização é, portanto, uma alternativa inovadora para diversificar o mercado de alimentos não lácteos probióticos.

Desta forma, este trabalho tem como objetivos desenvolver um novo produto probiótico a partir da atomização de suco de laranja probiótico contendo *Lactobacillus casei* NRRL B-442, e avaliar a influência dos parâmetros de secagem sobre a viabilidade, o rendimento e os parâmetros físicos do produto em pó.

3 METODOLOGIA

3.1 Obtenção do *Lactobacillus casei* NRRL B-442 (*L. casei*)

Foi utilizado neste estudo o micro-organismo *Lactobacillus casei* NRRL B-442, obtido junto à coleção de culturas do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (NRRL *Culture Collection*, Peoria Illinois, USA). O micro-organismo foi mantido a -20 °C em caldo De Man, Rogosa e Sharpe (MRS) (Himedia[®]) adicionado de glicerol 50% (v/v).

3.2 Ativação do *L. casei* NRRL B-442

A ativação do *L. casei* foi realizada a partir da adição de 8 mL da cultura estoque (congelada a -20 °C) em 100 mL de caldo MRS previamente adicionado de 10 mL de tampão fosfato de potássio dibásico (200 m.mol/L, pH 6,5). A ativação foi conduzida em estufa por um tempo suficiente para a cultura atingir absorvância de 0,600 a 590 nm (aproximadamente 8 horas), correspondendo a uma concentração de células da ordem de 10⁹ UFC/mL, segundo a escala de MacFarland (MARIANO, 2000).

3.3 Formulação do suco de laranja

Para a formulação do suco de laranja foi realizada a diluição de suco de laranja concentrado sem adição de conservantes e de açúcar (LANJAL[®]) em água destilada estéril, segundo recomendação do fabricante (1:7). Em seguida, o pH do suco foi ajustado até 6,0 com hidróxido de sódio (NaOH) 6N (COELHO, 2009).

3.4 Obtenção do suco de laranja probiótico

O suco de laranja probiótico foi obtido a partir da fermentação do suco (formulado conforme descrito no item 3.3) pelo micro-organismo *Lactobacillus casei* NRRL B-442 (2 mL de cultura ativada para 100 mL de suco), a 30 °C em estufa incubadora B.O.D. (Biochemical Oxygen Demand) (marca Marconi[®], Modelo MA 415) pelo período de 20 horas (COELHO, 2009).

3.5 Secagem do suco de laranja fermentado probiótico

A secagem do suco de laranja probiótico foi realizada em mini *spray dryer* modelo MSD 1.0 (Labmaq do Brasil LTDA[®]). Foram mantidas fixas as seguintes condições: vazão do ar pressurizado (30 L/min); vazão do ar quente (3,5 m³/min) e velocidade de alimentação (0,5 L/h), variando-se a temperatura de entrada do ar de secagem e o tipo e quantidades dos agentes de secagem (p/p).

3.5.1 Escolha do agente de secagem

A escolha do agente de secagem foi realizada em duas etapas. Na primeira, o suco de laranja probiótico foi seco a 120 °C mantendo-se fixas a velocidade do ar pressurizado, a vazão do ar quente e a velocidade de alimentação, conforme item anterior. Foram variados o tipo e quantidade do agente de secagem. Foram utilizadas nesta primeira etapa maltodextrina (Maltogil 20, DE (dextrose equivalente) 19-23%) e gelatina (Royal, Kraft Foods).

Em um segundo momento, foram realizadas secagens a 130 °C variando-se o agente de secagem, utilizando-se maltodextrina pura e maltodextrina associada a goma xantana (Tecnofor Indústria e Comércio Ltda.) e goma arábica (Sunset Importação e Exportação Ltda.).

3.5.2 Variação da concentração de maltodextrina e da temperatura de secagem

Após a determinação do agente de secagem mais adequado para o suco de laranja probiótico variou-se a concentração de maltodextrina em 5, 10 e 15% (p/p), correspondendo à relação sólidos de maltodextrina/sólidos de suco probiótico de 1:2, 1:1 e 3:2, respectivamente. Variou-se também, a temperatura de entrada do ar de secagem (130, 140 e 150 °C). Os demais parâmetros de secagem foram mantidos fixos: velocidade do ar pressurizado (30 L/min); vazão do ar quente (3,5 m³/min) e velocidade de alimentação (0,5 L/h), variando-se a temperatura do ar de secagem de entrada e o tipo e quantidades dos agentes de secagem (p/p).

3.6 Análise da viabilidade do *L. casei* NRRL B-442

3.6.1 Viabilidade do *L. casei* antes da secagem

Após o período de 20 horas de fermentação, realizou-se a contagem do número de células viáveis em placa, a partir da diluição seriada do suco de laranja fermentado em água peptonada (Himedia[®]) estéril até a diluição 10^{-6} . Em seguida foi inoculado 0,1 mL desta diluição em triplicata em placas de Agar MRS pelo método *spread plate*.

As placas foram incubadas a 37 °C em incubadora B.O.D. (Marconi[®], Modelo MA 415) pelo período de 72 horas, sendo então, contadas as colônias típicas de *L. casei*.

3.6.2 Viabilidade do *L. casei* no produto em pó

Após a secagem, o produto em pó coletado da câmara de secagem, do ciclone e do vidro de coleta foi homogeneizado. Um grama do produto em pó obtido foi dissolvido em 9 mL de água peptonada a partir da metodologia adaptada descrita por Goula e Adamopoulos (2010). Em seguida, foi realizada a diluição seriada da amostra e inoculou-se 0,1 mL das diluições mais adequadas em placas de Agar MRS pelo método *spread plate*.

O valor final de viabilidade celular foi expresso em Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por grama de pó. Este foi convertido para UFC/porção de produto. Para tanto, considerou-se 200 mL como uma porção adequada para suco de laranja fermentado probiótico. Após isto, os valores de viabilidade originalmente obtidos em UFC/g foram convertidos para UFC/porção de 200 mL a partir dos valores de Sólidos Solúveis Totais (SST) do suco de laranja fermentado probiótico adicionado de maltodextrina antes da secagem e o valor de SST do suco de laranja fermentado probiótico medido após a secagem. A partir destes valores de SST, foi calculado um fator que expressa a quantidade de pó que deve ser utilizada para preparar a porção de 200 mL de suco com teor de SST semelhante ao do suco (contendo o agente de secagem) antes do processo de atomização. Os valores de viabilidade foram, então, multiplicados pelo fator correspondente a cada concentração de maltodextrina.

A perda de viabilidade foi calculada a partir da diferença logarítmica entre as contagens antes e após a secagem, conforme a expressão a seguir:

$$\text{Perda logarítmica} = \log N_0 - \log N$$

Onde, N_0 é o número de células de *L. casei* no suco de laranja probiótico antes da secagem e N é o número células de *L. casei* presentes no suco de laranja probiótico em pó. Ambos, N e N_0 , foram expressos por grama de Sólidos Solúveis Totais (SST) antes do cálculo da perda de viabilidade.

3.7 Análises físicas no suco de laranja fermentado probiótico em pó

3.7.1 Análise de sólidos solúveis totais (SST)

A análise dos SST foi realizada no suco de laranja probiótico em pó adicionado do agente de secagem (antes da secagem) através da medida direta por um refratômetro portátil (Reichert[®], modelo r² mini). Após a secagem, foi realizada a leitura em uma solução onde 1 g do suco de laranja probiótico em pó foi diluído em 10 mL de água destilada (IAL, 2008).

3.7.2 Cálculo do rendimento

O rendimento foi calculado a partir do peso do produto em pó coletado no ciclone e no vidro de coleta, conforme a seguinte expressão:

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{Peso do produto em pó} \times 100}{\text{SST}_{\text{mistura}}}$$

Onde: $\text{SST}_{\text{mistura}}$ = Quantidade de sólidos solúveis totais presentes no suco adicionado de maltodextrina.

3.7.3 Análise do tempo de reconstituição

Para a análise do tempo de reconstituição do suco de laranja probiótico em pó, foram adicionados 2 g do produto em 50 mL de água destilada. A mistura foi agitada em um Becker de vidro de 100 mL em um agitador magnético, marca Marconi[®] MA-089 a 812 rpm, usando uma barra magnética de 4x14 mm. A cada 30 segundos a mistura foi observada para estimar o tempo de reidratação a partir da metodologia adaptada descrita por Goula e Adamopoulos (2010).

3.7.4 Análise da umidade

Para a determinação da umidade foram pesados 2 g da amostra, as quais foram colocadas em cadinhos de alumínio, em triplicata. Em seguida, procedeu-se com a secagem das amostras em estufa a vácuo (marca Quimis, modelo Q819V2), a 70 °C até pesos constantes (com menos de 0,3% de variação), medidos a cada duas horas de intervalo (IAL, 2008).

3.7.5 Análise da atividade de água (Aw)

A análise da Aw foi realizada a 25 °C por medida direta no produto em equipamento digital marca Aqualab[®], modelo 3TE (IAL, 2008).

3.7.6 Análise da densidade

Para a medida da densidade, 2 g do suco probiótico em pó foram transferidos para uma proveta de 10 mL. A densidade foi calculada dividindo-se a massa do pó pelo volume ocupado no cilindro a partir da metodologia descrita por Goula e Adamopoulos (2010) adaptada.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Atomização do suco de laranja probiótico sem agentes de secagem

O suco de laranja fermentado probiótico em pó foi obtido a partir da coleta em três diferentes compartimentos do *spray dryer* (Figura 7).

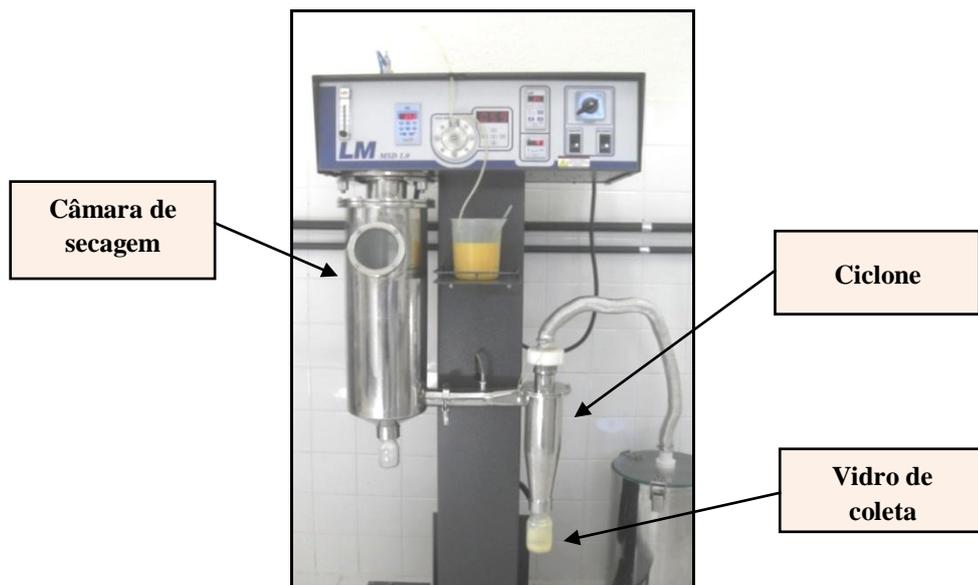


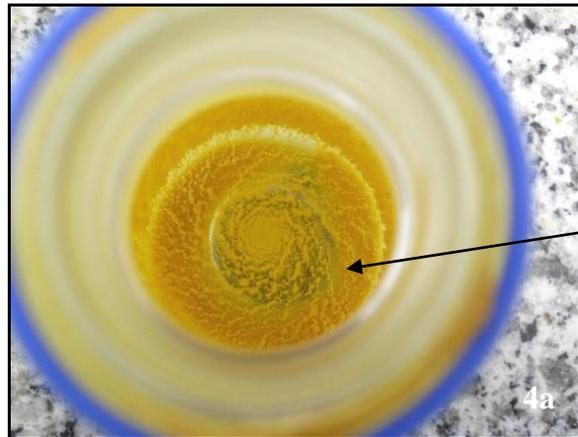
Figura 7 – Diferentes compartimentos de mini *spray dryer* Labmaq do Brasil LTDA, modelo MSD 1.0.

A partir da atomização do suco de laranja fermentado probiótico sem adição de qualquer agente de secagem, foi coletada uma quantidade de pó pequena (5,3%) em relação à quantidade de Sólidos Solúveis Totais (SST) presentes inicialmente no suco de laranja fermentado probiótico. O produto coletado apresentou aspecto úmido (Figura 8).



Figura 8 – Produto em pó obtido a partir da atomização sem agente de secagem.

Neste caso, o produto em pó foi obtido apenas no vidro de coleta, a partir da recuperação de uma pequena quantidade de pó que ficou solta em meio a uma considerável quantidade de produto fortemente aderida às paredes do vidro (Figura 9a). Nos demais compartimentos do *spray dryer* o produto ficou totalmente aderido, formando uma crosta bastante espessa, tanto no ciclone (Figura 9b), quanto na câmara de secagem (Figura 9c).



Visão interna do vidro de coleta: material aderido e uma pequena quantidade de produto em pó



Produto aderido às paredes do ciclone e da câmara

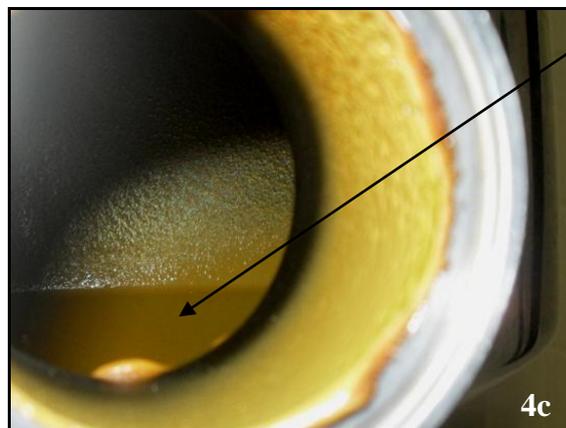


Figura 9 – Produto aderido no vidro de coleta (4a), nas paredes do ciclone (4b) e no interior da câmara de secagem (4c).

Resultados semelhantes aos obtidos neste trabalho foram observados por Chegini e Ghobadian (2007). De acordo com estes autores, o suco de laranja probiótico atomizado sem agente de secagem ficou totalmente aderido nas paredes da câmara de secagem e do ciclone, formando uma crosta. Roustapour, Hosseinalipour e Ghobadian (2006) também constataram a inviabilidade da secagem de suco de lima por *spray dryer* sem a adição de agentes de secagem.

A perda de material aderido nos compartimentos do *spray dryer* observada durante a secagem do suco de laranja fermentado está relacionada ao fenômeno de transição vítrea. A temperatura de transição vítrea, assim como a alta higroscopicidade de produtos em pó amorfos, o aumento da solubilidade dos açúcares com a temperatura e o baixo ponto de fusão estão relacionados ao problema de *stickness*. Este fenômeno ocorre em materiais denominados *stick*, como por exemplo, os ácidos e açúcares presentes nos sucos de frutas e vegetais. Desta forma, durante a secagem, estes materiais podem permanecer na forma de xarope ou aderir nas paredes do equipamento, levando a perdas de rendimento e problemas operacionais, além de perdas na qualidade, dificuldades de manipulação e reconstituição do produto (BHANDARI; DATTA; HOWES, 1997; CANO-CHAUCA *et al.*, 2005; GOULA; ADAMOPOULOS, 2010; ROUSTAPOUR *et al.*, 2010).

O suco de laranja fermentado probiótico em pó também foi submetido a uma análise de viabilidade a fim de se observar a capacidade de sobrevivência do micro-organismo probiótico à atomização sem a presença de agente de secagem. A viabilidade final foi de $9,9 \times 10^6$ UFC por grama do produto. Este resultado mostra que o micro-organismo *L. casei* tem a capacidade de sobreviver à secagem por *spray dryer*, ainda que não seja adicionado nenhum tipo de agente de secagem.

No entanto, ainda que o micro-organismo probiótico tenha sobrevivido ao processo de secagem, o rendimento do pó foi muito baixo. Em produtos ricos em açúcares como sucos de frutas, o uso de agentes de secagem como maltodextrina e goma arábica é uma alternativa para melhorar as características físicas do pó, inclusive o rendimento, tendo em vista que estes agentes têm a capacidade de aumentar a temperatura de transição vítrea desses componentes (BHANDARI; DATTA; HOWES, 1997; MESTRY; MUJUMDAR; THORAT, 2011) reduzindo, conseqüentemente, problemas de aglomeração e adesão às paredes do equipamento (CHEGINI; GHOBADIAN, 2007), viabilizando, assim a secagem de produtos ricos em açúcares por *spray dryer*.

Deste modo foram testados quatro tipos de agentes de secagem (maltodextrina, goma arábica, goma xantana e gelatina) objetivando avaliar qual agente é mais adequado para a secagem do suco de laranja fermentado probiótico por *spray dryer*.

4.2 Escolha do agente de secagem

4.2.1 Avaliação da influência da maltodextrina associada à gelatina no rendimento e na viabilidade de *L. casei* em suco de laranja fermentado antes e após a secagem

A maltodextrina é um agente de secagem largamente usado para a secagem de sucos de frutas (CHEGINI; GHOBADIAN, 2007; GOULA; ADAMOPOULOS, 2010; JAYA; DAS, 2004; MESTRY; MUJUMDAR; THORAT, 2011; PARAMITA *et al.*, 2010). O uso deste agente pode aumentar a quantidade de sólidos da amostra e reduzir o teor de umidade do produto seco. Isto sugere que a maltodextrina é capaz de alterar a capacidade de aderência de moléculas, como açúcares de baixo peso molecular e ácidos orgânicos, facilitando a secagem e reduzindo a perda de material no *spray dryer* (QUEK; CHOK; SWEDLUND, 2007). A maltodextrina é também um produto de cor e sabor neutros, além de ser relativamente barato (BHANDARI; DATTA; HOWES, 1997).

A gelatina é normalmente utilizada na microencapsulação por *spray dryer* de diversos materiais. Este agente possui diversas propriedades, como alto poder emulsificante, alta atividade estabilizante, e a tendência a formar finas redes durante a secagem (GHARSALLAOUI *et al.*, 2007). A adição de uma pequena quantidade de gelatina pode ser uma alternativa para melhorar a capacidade de encapsulação de alguns agentes. Yoshii *et al.* (2001), por exemplo, observaram que a adição de 1% (p/p) de gelatina a goma arábica aumentou a retenção do etil butirato após a encapsulação por *spray dryer*.

Dessa forma, foram utilizadas como agentes de secagem maltodextrina DE 20 (MD) pura e associada com gelatina (GL). As secagens foram realizadas a 120 e a 130 °C. Os demais parâmetros de secagem foram mantidos fixos: vazão do ar ambiente pressurizado (30 L/min); vazão do ar quente (3,5 m³/min) e velocidade de alimentação (0,5 L/h).

Tabela 1 – Influência da temperatura de entrada do ar de secagem, da maltodextrina e da gelatina no rendimento e viabilidade de *L. casei*.

Te (°C)	Agente de secagem (p/p)	Viabilidade (log UFC/g de produto)	Rendimento (%)
120	10% MD	8,6 ± 0,07	20,4
120	5% MD + 1% GL	8,9 ± 0,11	25,1
130	10% MD	6,7 ± 0,13	41,9
130	5% MD	8,1 ± 0,07	35,3
130	5% MD + 1% GL	8,8 ± 0,11	45,2
130	5% MD + 0,5% GL	9,2 ± 0,02	37,6

Onde: Te = temperatura de entrada do ar de secagem, MD = Maltodextrina e GL = gelatina.

De acordo com a Tabela 1, todos os valores de rendimento para o suco atomizado a 130 °C foram significativamente superiores aos obtidos na secagem a 120 °C, explicitando a influência positiva da temperatura no aumento do rendimento.

Na secagem onde a temperatura de entrada do ar de secagem (Te) foi de 120 °C observou-se que o rendimento do produto adicionado de 5% de maltodextrina associada a 1% de gelatina foi superior ao obtido a 10% de maltodextrina. Isto indica que a gelatina influenciou positivamente no rendimento, de forma que foi necessária apenas metade do valor de maltodextrina, quando a gelatina foi utilizada, para se obter rendimento superior ao proporcionado pelo uso de maltodextrina pura.

A 130 °C observou-se que o aumento na concentração de maltodextrina promoveu o aumento do rendimento. De forma semelhante, ao aumentar a concentração de gelatina, houve também aumento do rendimento, mesmo que a proporção desta tenha sido pequena em relação ao total de maltodextrina (Figura 10).

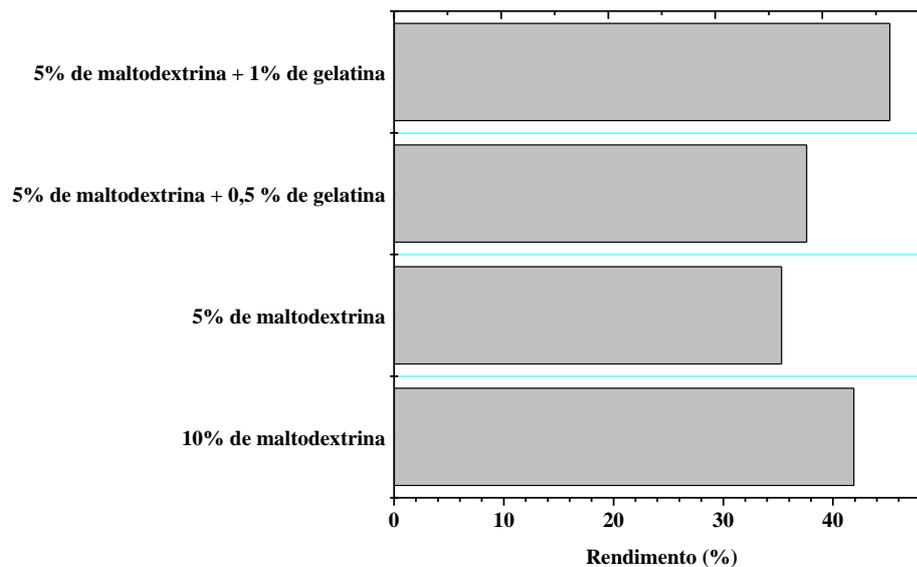


Figura 10 – Influência da adição de maltodextrina e gelatina em suco de laranja fermentado probiótico no rendimento após a secagem por *spray dryer* a 130 °C.

Estudos mostram a influência do uso de proteínas no aumento do rendimento. Adhikari, *et al.* (2009), por exemplo, relataram que a adição de pequenas quantidades (0.5 – 1% na mistura seca) de proteínas de soro de leite na produção de sacarose em pó por *spray dryer* melhorou a recuperação do produto em pó de 0% para mais de 80%. Isto é atribuído ao fato das proteínas migrarem durante a secagem para a superfície das gotículas impulsionadas por sua atividade de superfície, formando uma película rica em proteína logo depois de entrar em contato com o ar quente. O filme passa para o estado vítreo e resiste tanto à aderência das partículas umas nas outras quanto nas paredes do equipamento, devido o aumento da temperatura de transição vítrea da camada superficial.

A viabilidade do micro-organismo probiótico após a secagem variou entre 6,7 e 9,2 log UFC/g de pó. Todas as amostras, com exceção da que foi adicionada de 10% de maltodextrina pura apresentaram valores superiores a 8 log UFC/g de pó. Desta forma, a maioria dos valores encontrados apresenta-se dentro dos limites exigidos para alimentos probióticos, uma vez que a legislação brasileira exige uma quantidade mínima de 10^8 a 10^9 UFC de micro-organismo probiótico por porção de alimento (ANVISA, 2008), que correspondem a 8 e 9 log UFC por porção, respectivamente.

A concentração dos agentes de secagem demonstrou forte influência na viabilidade do microrganismo probiótico. De acordo com a Figura 11, pode-se observar que o aumento da quantidade de maltodextrina pode ter contribuído para a diminuição na contagem células viáveis do micro-organismo probiótico. Entretanto, a partir dos dados obtidos nesta primeira etapa não é possível precisar se a perda foi de fato ocasionada pelo aumento da quantidade de maltodextrina, pelo aumento da temperatura, ou devido a um efeito combinado de ambos os fatores.

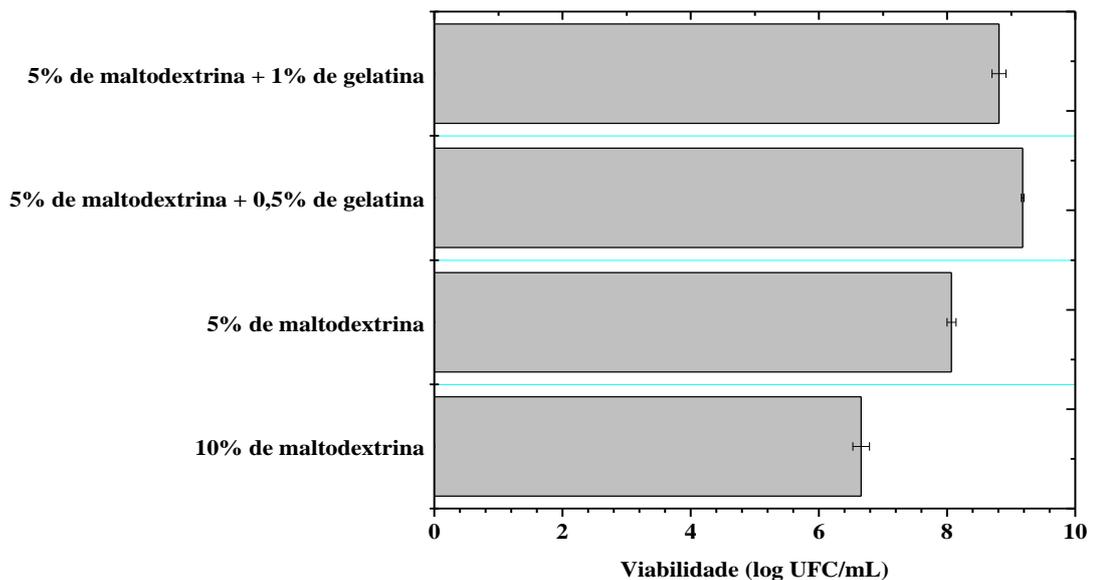


Figura 11 – Influência da adição de maltodextrina e gelatina em suco de laranja fermentado probiótico na viabilidade de *L. casei* NRRL B-442 após a secagem por *spray dryer* a 130 °C.

Nas amostras onde foram adicionados 5% de maltodextrina pura e 5% de maltodextrina associada com 1% de gelatina foram realizados testes de reconstituição. Os valores obtidos foram de 60 e 360 segundos, respectivamente. Ou seja, o valor do tempo de reconstituição quando a gelatina esteve presente foi seis vezes maior do que quando apenas maltodextrina foi utilizada. Este resultado mostra que, embora o uso associado de maltodextrina e gelatina tenha proporcionado o aumento do rendimento e da viabilidade final do *L. casei* em suco de laranja fermentado probiótico, esta combinação promove um aumento muito grande no tempo de reconstituição, parâmetro indispensável para o preparo do produto na hora do consumo.

O aumento do tempo de reconstituição ocasionado pelo uso de gelatina como agente de secagem pode estar associado às propriedades de solubilidade da gelatina. A gelatina é um polímero poli anfipático derivado da hidrólise parcial do colágeno (KARIM; BHAT, 2009). Em soluções aquosas, a baixas temperaturas (menores que 40 °C), este polímero tem a capacidade de formação de gel, aumentando assim, a viscosidade do meio (HONE; HOWE, 2002). Além das propriedades naturais da gelatina, o aumento do tempo de reconstituição pode estar relacionado a mudanças estruturais na molécula de gelatina durante o processo de secagem. Rbii *et al.* (2011) reportaram que filmes de gelatina submetidos a tratamentos térmicos podem sofrer interações entre as regiões reativas da molécula de gelatina formando uma rede tridimensional insolúvel.

Desta forma, o uso da gelatina não se mostra adequado para a elaboração de suco de laranja fermentado probiótico em pó. No entanto, este produto pode ser utilizado como ingrediente na elaboração de produtos probióticos, como sorvetes e barrinhas de cereais, por exemplo, onde o longo tempo de dissolução não afeta negativamente a qualidade do produto final, podendo ser até um fator positivo, no caso de alimentos onde a absorção de água seja indesejada.

4.2.2 Avaliação da influência da maltodextrina associada a goma arábica e goma xantana no rendimento e na viabilidade de *L. casei* em suco de laranja fermentado probiótico

Sabendo-se da influência positiva da associação de baixas concentrações de gelatina à maltodextrina no rendimento e na viabilidade, foram realizados testes associando a maltodextrina a mais dois agentes de secagem em baixas concentrações. Os agentes utilizados foram a goma xantana (GX) e a goma arábica (GA), as quais foram associadas à maltodextrina na mesma proporção que a gelatina (1% (p/p)).

A temperatura do ar de entrada utilizada foi de 130 °C e os demais parâmetros de secagem foram mantidos fixos: vazão do ar ambiente pressurizado (30 L/min); vazão do ar quente (3,5 m³/min) e velocidade de alimentação (0,5 L/h). A Tabela 3 apresenta os resultados obtidos.

Tabela 2 – Influência da adição de maltodextrina, goma arábica e goma xantana em suco de laranja fermentado probiótico na viabilidade de *L. casei* NRRL B-442 após a secagem por *spray dryer* a 130 °C.

Agente de secagem (p/p)	Rendimento (%)	Tempo de reconstituição (s)	Viabilidade (log UFC/g de pó)
5% de MD	35,3	60	8,1 ± 0,07
5% de MD + 1% GX	31,7	180	7,8 ± 0,05
5% de MD + 1% GA	32,8	60	7,7 ± 0,04

Onde: MD = Maltodextrina, GX = Goma xantana e GA = Goma arábica.

De acordo com a Tabela 2, em relação ao uso de maltodextrina pura, a associação de maltodextrina e goma xantana não promoveu melhoras na viabilidade e no rendimento. Além disso, houve o aumento do tempo de reconstituição, fenômeno este indesejado. A utilização de maltodextrina associada à goma arábica também não promoveu melhorias nos tempos de reconstituição do suco em pó, na viabilidade final do micro-organismo probiótico ou no rendimento. Desta forma, estes dois agentes não apresentaram vantagens tecnológicas em relação ao uso de maltodextrina pura.

A maltodextrina é um agente de secagem bastante utilizado por seu baixo valor comercial, sua capacidade de evitar a aglomeração de partículas e reter voláteis (OLIVEIRA *et al.*, 2007). Desta forma, dentre os agentes e condições testados, utilizou-se maltodextrina pura como agente de secagem na atomização de suco de laranja fermentado probiótico em *spray dryer*.

4.3 Influência da temperatura e da concentração de maltodextrina na viabilidade e parâmetros físicos do pó

4.3.1 Efeito sobre a viabilidade de *L. casei* após a secagem

Em se tratando de alimentos probióticos, a viabilidade das células microbianas é um dos principais parâmetros de qualidade, uma vez que os efeitos benéficos no organismo somente serão garantidos se uma quantidade mínima de células micro-organismos probióticos viáveis for ingerida regularmente. Embora alguns autores citem valores mínimos variando entre 10^6 e 10^8 UFC/mL não existe um consenso sobre a quantidade mínima de probióticos que deve ser ingerida. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância de Saúde (ANVISA) recomenda uma quantidade mínima de 10^8 a 10^9 UFC de micro-organismo probiótico por porção de alimento. Assim, de toda forma, os valores de viabilidade finais devem ser altos, portanto, os parâmetros de secagem devem ser tais que permitam a obtenção de valores

máximos de viabilidade (DONKOR *et al.*, 2007; MESTRY; MUJUMDAR; THORAT, 2011; SAULNIER *et al.*, 2009).

Os valores de viabilidades obtidos a partir da secagem de suco de laranja fermentado probiótico foram apresentados tanto em log UFC/g de produto em pó, traduzindo a viabilidade do produto final, quanto em log UFC/porção de 200 mL expressando a quantidade de micro-organismos probióticos que estará sendo de fato ingerida pelo consumidor. A viabilidade foi ainda analisada em termos de perdas, onde foram levados em consideração os valores de viabilidade obtidos antes e após a secagem.

Como mencionado anteriormente, a legislação brasileira exige uma quantidade mínima de 10^8 a 10^9 UFC de micro-organismo probiótico por porção de alimento (ANVISA, 2008). Com o objetivo de estimar a viabilidade por porção consumida, os valores originalmente obtidos em UFC/g de produto foram convertidos em UFC por porção de 200 mL. Para o cálculo de conversão foram utilizados os valores de Sólidos Solúveis Totais (SST) presentes no suco de laranja fermentado probiótico adicionado de maltodextrina antes e após a secagem, obtendo-se um fator que expressa a quantidade de pó mínima para se obter uma porção de 200 mL de suco probiótico reconstituído. Os valores de viabilidade foram, então, multiplicados pelo fator correspondente a cada parâmetro (Tabela 3).

Tabela 3 – Viabilidade de *L. casei* em suco de laranja fermentado probiótico após a secagem por *spray dryer* em UFC por porção de 200 mL.

Temperatura de entrada (°C)	Quantidade de Maltodextrina (% p/p)	Viabilidade após a secagem
		log UFC/ porção de 200 mL*
130	5	8,60 ± 0,03
	10	8,02 ± 0,02
	15	7,14 ± 0,00
140	5	7,89 ± 0,03
	10	7,18 ± 0,01
	15	7,12 ± 0,07
150	5	7,45 ± 0,09
	10	6,78 ± 0,10
	15	5,96 ± 0,08

* Os valores de viabilidade originalmente obtidos em log UFC/g, foram convertidos para log UFC por porção de 200 mL.

A viabilidade do *L. casei* após a secagem variou entre 6,0 e 8,6 log UFC/200mL de suco reconstituído. As secagens a 130 °C onde foram adicionados 5 e 10% de maltodextrina apresentaram valores de viabilidade dentro dos padrões exigidos por lei, ou

seja, entre 10^8 a 10^9 UFC de micro-organismo probiótico por porção de alimento (ANVISA, 2008) que correspondem a 8 e 9 log UFC por porção, respectivamente. No entanto, parte das amostras apresentou valores de viabilidade inferiores a 8 log UFC de micro-organismo probiótico por porção, não se enquadrando nos limites exigidos pela legislação para uma porção de 200 mL.

A análise da influência da concentração de maltodextrina foi analisada com base na viabilidade expressa em log UFC/g de produto em pó (Tabela 4).

Tabela 4 – Concentração de células viáveis de *L. casei* em suco de laranja fermentado probiótico após a secagem por *spray dryer* em UFC por grama de produto em pó.

Temperatura (°C)	Concentração de células viáveis (log UFC/g de pó)		
	130	140	150
Maltodextrina (% p/p)	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP
5	7,12 ± 0,03 ^{aA}	6,41 ± 0,03 ^{bA}	5,98 ± 0,09 ^{cA}
10	6,44 ± 0,02 ^{aB}	5,60 ± 0,01 ^{bB}	5,20 ± 0,10 ^{cB}
15	5,48 ± 0,00 ^{aC}	5,46 ± 0,07 ^{aC}	4,00 ± 0,08 ^{bC}

Valores são média ± desvio padrão (n=3). Valores com letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si. Valores com letras maiúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

Observa-se que a viabilidade foi influenciada significativamente, tanto pela temperatura, quanto pela concentração de maltodextrina. Em relação à concentração de maltodextrina, observou-se que a concentração de células viáveis diminuiu à medida que se aumentou a concentração deste agente.

Durante o processamento do suco, a maltodextrina é adicionada após o período de fermentação, ou seja, a concentração de células microbianas presentes inicialmente é diluída à medida que se acrescenta maltodextrina. Desta forma, quanto maior a concentração deste agente, menor será a concentração de células viáveis do produto. Esta diminuição na viabilidade com o aumento da maltodextrina é praticamente inevitável, uma vez que não se pode extrair este agente após a secagem, e o produto final, sempre terá a sua viabilidade dependente da concentração do agente adicionado.

Para a comparação entre os diferentes tratamentos, os valores de viabilidade antes e após a secagem foram convertidos para log de UFC e padronizados de acordo com o teor de SST. Os valores de viabilidade obtidos no suco de laranja fermentado probiótico antes da secagem foram ainda padronizados em relação à quantidade de maltodextrina adicionada para evitar que os valores finais de perda de viabilidade fossem expressos sem considerar uma

possível diluição da concentração de células viáveis devido à quantidade de maltodextrina adicionada. Após a padronização foi realizado o cálculo de perda de viabilidade. Os valores obtidos encontram-se na Tabela 5.

Tabela 5 – Perda de viabilidade de *L. casei* em suco de laranja fermentado probiótico após a secagem por *spray dryer*.

Temperatura (°C)	Perda de viabilidade (log UFC)		
	130	140	150
Maltodextrina (% p/p)	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP
5	3,06 ± 0,07 ^{aB}	2,49 ± 0,11 ^{bB}	4,57 ± 0,10 ^{cA}
10	3,67 ± 0,06 ^{aA}	3,31 ± 0,16 ^{bA}	5,24 ± 0,10 ^{cA}
15	3,65 ± 0,31 ^{aA}	3,65 ± 0,30 ^{aA}	6,06 ± 0,26 ^{bA}

Valores são média ± desvio padrão (n=3). Valores com letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si. Valores com letras maiúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

De forma geral, a perda de viabilidade é significativa ao se variar a concentração de maltodextrina de 5 para 10%. No entanto, para a temperatura de 150 °C também foi observado o aumento na perda de viabilidade entre as concentrações de 10 e 15% de maltodextrina. Observa-se também que quanto à temperatura, as amostras submetidas a 150 °C foram as que apresentaram as maiores perdas de viabilidade, o que era esperado, visto que temperaturas elevadas podem causar danos na membrana das células do micro-organismo resultando em perdas de viabilidade do produto (KEARNEY *et al.*, 2009; MESTRY, MUJUMDAR E THORAT, 2011).

4.3.2 Efeito da variação da temperatura e da quantidade de maltodextrina sobre o rendimento

O rendimento do suco de laranja fermentado probiótico após a secagem variou de 17,5 a 45,3%. A Figura 12 mostra os valores de rendimento obtidos a partir da variação da temperatura do ar de secagem de entrada e da concentração de maltodextrina.

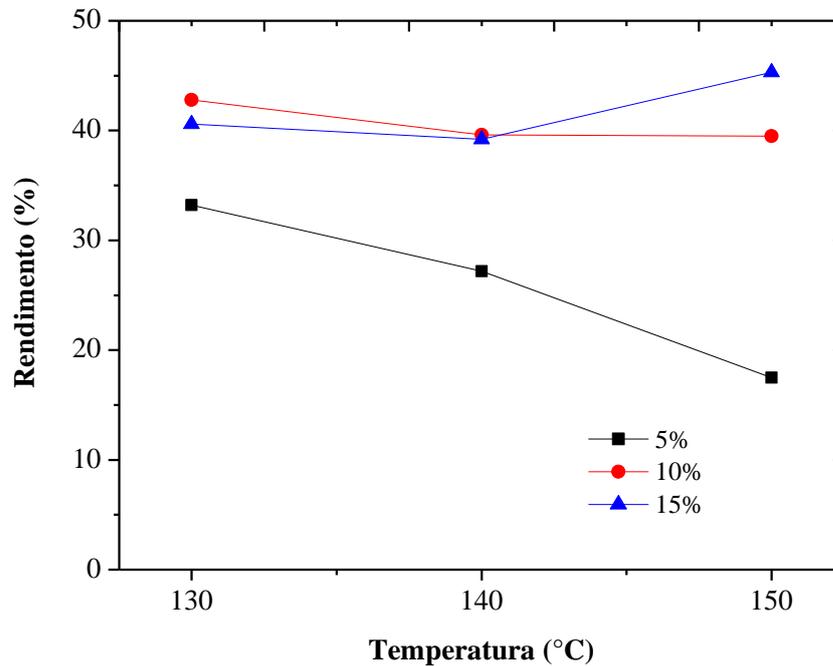


Figura 12 – Influência da quantidade de maltodextrina e da temperatura do ar de secagem de entrada no rendimento de suco de laranja fermentado probiótico seco por *spray dryer*.

De acordo com a Figura 12, observa-se que foi possível produzir suco de laranja probiótico em pó nas três concentrações de maltodextrina utilizadas. A 5%, o rendimento variou entre 17,5 e 33,2%. Este resultado difere do obtido por Mestry, Mujumdar e Thorat (2011), os quais relatam que a utilização de 5% de maltodextrina na secagem de suco misto de melão e cenoura por *spray dryer* não possibilitou a produção de pó fluido devido a problemas de *stickness* e deposição do produto na parede do equipamento.

O rendimento variou entre 39,5 e 42,8% para 10% de maltodextrina e entre 39,2 e 45,6% para 15% de maltodextrina. Estes valores foram superiores aos obtidos a 5% de maltodextrina. Semelhantemente, Quek, Chok e Swedlund (2007), ao secarem suco de melancia por *spray dryer*, observaram que o uso de maltodextrina melhorou o rendimento do produto, assim como, Chegigi e Ghobadian (2007), ao estudarem a secagem de suco de laranja por *spray dryer*, observaram que o uso de maltodextrina promoveu melhoras no rendimento entre 18 e 35%. A melhora no rendimento com o aumento da concentração de maltodextrina pode estar relacionada ao aumento da T_g do produto, uma vez que o uso de agentes de secagem promove o aumento da T_g , melhorando o rendimento (JAYA; DAS, 2004).

Em relação à temperatura, o aumento desta promoveu a diminuição do rendimento, quando se utilizou 5% de maltodextrina. Chegigi e Ghobadian (2007) também verificaram que a temperatura do ar de secagem de entrada apresentou forte influência no processo de secagem, variando inversamente em relação ao valor do rendimento. Estes autores explicam que a diminuição do rendimento com o aumento da temperatura pode estar relacionado à fusão das partículas de pó promovidas pelas altas temperaturas. Nas concentrações de 10 e 15%, houve pouca variação do rendimento em relação à temperatura.

4.3.3 Efeito da variação da temperatura e da quantidade de maltodextrina sobre o tempo de reconstituição

A partir da Tabela 6 pode-se observar que os resultados de reconstituição variam de 60 a 180 segundos. Esses valores são semelhantes aos encontrados por Goula e Adamopoulos (2010), os quais obtiveram valores variando de 77 a 200 segundos.

Tabela 6 – Influência da quantidade de maltodextrina e da temperatura de entrada do ar de secagem no tempo de reconstituição do suco de laranja fermentado probiótico seco por *spray dryer*.

Tempo de reconstituição (s)			
Temperatura (°C)	130	140	150
Maltodextrina (%)	Média	Média	Média
5	180	120	130
10	60	110	90
15	60	70	60

Os menores tempos de reconstituição foram obtidos nas maiores concentrações de maltodextrina. O efeito da quantidade de maltodextrina na reconstituição depende da umidade do produto. De acordo com Goula e Adamopoulos (2010), a baixa umidade em uma amostra está associada com a rápida reconstituição, uma vez que quanto menor o teor de umidade menor será a capacidade de aderência do material, e assim a área de superfície das partículas em contato com as moléculas de água será maior.

Comparando a Tabela 6 com a Tabela 7 (item 4.3.4), observa-se que da mesma forma que a umidade diminui com o aumento da concentração de maltodextrina, o tempo de reconstituição também diminui.

4.3.4 Efeito da variação da temperatura e da quantidade de maltodextrina sobre a umidade

Os valores de umidade do suco de laranja fermentado probiótico em pó variaram de 0,94 a 3,05%. Tonon, Brabet e Hubinger (2008) obtiveram resultados semelhantes ao secarem suco de açaí, entre 0,64 a 2,89%.

Como apresentado na Tabela 7, observa-se que, à medida que a quantidade de maltodextrina aumenta, a umidade diminui. De forma similar, Quek, Chok e Swedlund (2007), ao estudarem a secagem de suco de melancia por *spray dryer*, constataram que a umidade do produto em pó decresceu à medida que a quantidade de maltodextrina aumentou. Estes autores afirmam que a diminuição da umidade com a adição de maltodextrina deve-se ao aumento do teor de sólidos da amostra ocasionado pela adição de maltodextrina.

Tabela 7 – Influência da quantidade de maltodextrina e da temperatura de entrada do ar de secagem na umidade de suco de laranja fermentado probiótico seco por *spray dryer*.

Temperatura (°C)	Umidade (%)		
	130	140	150
Maltodextrina (%)	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP
5	3,05 ± 0,15 ^{aA}	2,85 ± 0,10 ^{aA}	2,01 ± 0,25 ^{bA}
10	1,84 ± 0,16 ^{aA}	1,82 ± 0,15 ^{aA}	1,92 ± 0,23 ^{aA}
15	1,18 ± 0,24 ^{aA}	0,94 ± 0,15 ^{aA}	1,09 ± 0,05 ^{aB}

Valores são média ± desvio padrão (n=3). Valores com letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si. Valores com letras maiúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey (p < 0,05).

De forma geral, com relação à temperatura, a umidade permaneceu estável à medida que a temperatura variou. Este resultado difere dos apresentados por Mestry, Mujumdar e Thorat (2011) os quais observaram a diminuição na umidade com o aumento da temperatura durante a secagem de suco misto de melão e cenoura. Os autores explicam que o aumento da temperatura resulta em elevado gradiente de temperatura entre a amostra a ser seca e o meio de secagem, favorecendo a retirada de água e resultando em baixo teor de umidade no produto final.

4.3.5 Efeito da variação da temperatura e da quantidade de maltodextrina sobre a atividade de água (*Aw*)

A atividade de água, definida como a relação entre a pressão de vapor de uma solução ou de um alimento e a pressão de vapor da água pura em uma dada temperatura, é um

parâmetro muito importante para a avaliação da qualidade de produtos em pó, influenciando diretamente a vida de prateleira do produto, pois, enquanto a umidade expressa a quantidade total de água presente na amostra, a A_w indica a intensidade das forças que unem a água a componentes não-aquosos, demonstrando, portanto, a quantidade de água disponível para o crescimento microbiano e o desenvolvimento de reações químicas e bioquímicas. Geralmente, alimentos com A_w menor que 0,6 são considerados microbiologicamente estáveis, caso não haja a presença de esporos (ORDÓÑEZ, 2005; QUEK; CHOK; SWEDLUND, 2007). A Tabela 8 mostra os valores de A_w obtidos para o suco de laranja fermentado probiótico em pó.

Tabela 8 – Influência da quantidade de maltodextrina e da temperatura de entrada do ar de secagem na A_w de suco de laranja fermentado probiótico seco por *spray dryer*.

A_w			
Temperatura (°C)	130	140	150
Maltodextrina (%)	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP
5	0,208 ± 0,002 ^{aA}	0,222 ± 0,004 ^{bA}	0,255 ± 0,003 ^{cA}
10	0,252 ± 0,007 ^{aA}	0,242 ± 0,006 ^{aB}	0,255 ± 0,004 ^{aA}
15	0,195 ± 0,005 ^{aA}	0,214 ± 0,007 ^{aA}	0,205 ± 0,013 ^{aB}

Valores são média ± desvio padrão (n=3). Valores com letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si. Valores com letras maiúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

A partir da Tabela 8, observa-se que, em todas as condições testadas, foram obtidos baixos valores de A_w , entre 0,195 e 0,255. Estes resultados indicam que o produto obtido apresenta-se estável microbiologicamente. No entanto, para manter esta estabilidade, o produto deve ser armazenado devidamente, em embalagens com barreira a umidade para evitar a absorção de água e o aumento da A_w a níveis favoráveis ao crescimento microbiano.

Os valores de A_w diminuíram com o aumento na concentração de maltodextrina a partir da concentração de 10% de maltodextrina. De forma semelhante, Quek, Chok e Swedlund (2007), ao secarem suco de melancia por *spray dryer*, verificaram que a A_w diminuiu com o aumento da quantidade de maltodextrina. No entanto, Goula e Adamopoulos (2010) observaram, durante a secagem de suco de laranja concentrado por *spray dryer*, que, ao se aumentar a quantidade de maltodextrina, os valores de A_w também aumentaram. Estes autores atribuíram esse aumento na A_w à dificuldade de difusão das moléculas de água nas moléculas de maltodextrina. Em relação à temperatura, esta não influenciou significativamente a A_w , com exceção das amostras adicionadas de 5% de maltodextrina, onde a A_w aumentou com o aumento da temperatura.

4.3.6 Efeito da variação da temperatura e da quantidade de maltodextrina sobre a densidade

A Tabela 9 mostra a relação entre a temperatura do ar de secagem de entrada e a concentração de maltodextrina na densidade do suco de laranja fermentado probiótico em pó.

Tabela 9 – Influência da quantidade de maltodextrina e da temperatura de entrada do ar de secagem na densidade de suco de laranja fermentado probiótico seco por *spray dryer*.

Temperatura (°C)	Densidade (g/ mL)		
	130	140	150
Maltodextrina (%)	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP
5	1,54 ± 0,00 ^{aA}	1,43 ± 0,00 ^{bA}	1,37 ± 0,05 ^{bA}
10	1,54 ± 0,12 ^{aA}	1,34 ± 0,09 ^{aA}	1,54 ± 0,00 ^{aA}
15	1,54 ± 0,00 ^{aA}	1,43 ± 0,00 ^{bA}	1,62 ± 0,07 ^{aA}

Valores são média ± desvio padrão (n=3). Valores com letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si. Valores com letras maiúsculas iguais na mesma coluna não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey (p < 0,05).

Os valores de densidade variaram de 1,34 a 1,62 g/mL. De acordo com a Tabela 9, a variação da temperatura do ar de secagem de entrada, assim como a variação da concentração de maltodextrina não causam efeito significativo no valor da densidade, com exceção do valor obtido a partir da concentração de 5% de maltodextrina a 150 °C, o qual se apresentou menor do que os demais valores.

A estabilidade da densidade pode estar relacionada à umidade. Goula e Adamopoulos (2010) afirmam que o aumento da capacidade de aglomeração de um material está relacionado com sua umidade, uma vez que, quanto mais tendem a aglomeração, menor será o espaço entre as partículas, e conseqüentemente, menor será o volume ocupado e maior será a densidade. Dessa forma, a baixa variação nos valores da umidade (item 4.3.4) pode estar relacionada à uniformidade nos valores de densidade.

5. CONCLUSÕES

O processo de atomização do suco de laranja probiótico fermentado sem o uso de um agente de secagem foi considerado inviável em relação ao baixo rendimento obtido. No entanto, dentre as condições testadas, verificou-se que a maltodextrina é um agente de secagem adequado para o processo de atomização deste produto.

Em todas as temperaturas e concentrações de maltodextrina testadas, foi possível a recuperação do produto atomizado, com valores de umidade e A_w adequados para conferir estabilidade microbiológica a este.

Os valores de viabilidade foram aceitáveis para a legislação brasileira nas condições de 130 °C e nas concentrações de maltodextrina de 5 e 10%. Contudo com 10% de maltodextrina obteve-se maior rendimento e menor tempo de reconstituição.

Desta forma obteve-se um produto com características desejáveis para um alimento probiótico em pó, atendendo aos atuais consumidores e àqueles que apresentam restrições quanto ao consumo de produtos probióticos lácteos. Todavia, a vida de prateleira, tipo de embalagem e aceitação do produto pelo consumidor devem ser avaliados em um estudo futuro para possibilitar sua disponibilização no mercado.

REFERÊNCIAS

AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION. Position of the American Dietetic Association: Functional Foods. **Journal of the America Dietetic Association**. v. 109, p. 735-746, 2009.

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

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

ANVISA – AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos**, 2008.

BADARÓ, A. C. L.; GUTTIERES, A. P. M.; REZENDE, A. C. V.; STRINGHETA, P. C. Alimentos probióticos: Aplicações como promotores da saúde humana – Parte 2. **Nutrir Gerais - Revista Digital de Nutrição**, Ipatinga, v. 3, n. 4, p. 396-416, fev./jul. 2009.

BAO, Y.; ZHANG, Y.; ZHANG, Y.; LIU, Y.; WANG, S.; DONG, X.; WANG, Y.; ZHANG, H. Screening of potential probiotic properties of *Lactobacillus fermentum* isolated from traditional dairy products. **Food Control**, v. 21, p. 695-701, 2010.

BHANDARI, B.R.; HOWES, T. Implication of glass transition for the drying and stability of dried foods. **Journal of Food Engineering**, v. 40, p. 71-79, 1999.

BHANDARI, B. R.; DATTA, N.; HOWES, T. Problems associated with spray drying of sugar-rice foods. **Drying Technology**, v. 15, n. 2, p. 671-684, 1997.

BOONYAI, P.; HOWES, T.; BHANDARI, B. Applications of the cyclone stickiness test for characterization of stickiness in food powders. **Drying Technology**, v. 24, n. 6, p. 703-709, 2006.

BÜRKI, K.; JEON, I.; ARPAGAUS, C.; BETZ, G. New insights into respirable protein powder preparation using a nano spray dryer. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 408, p. 248-256, 2011.

BURITI, F. C. A.; ROCHA, J. S.; ASSIS, E. G.; SAAD, S. M. I. Probiotic potential of Minas fresh cheese prepared with the addition of *Lactobacillus paracasei*. **Food Science and Technology**, v. 38, p. 173-180, 2005.

BURITI, F. C. A.; SAAD, S. M. I. Bactérias do grupo *Lactobacillus casei*: caracterização, viabilidade como probióticos em alimentos e sua importância para a saúde humana. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 57, n. 4, 2007.

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

CHEGINI, G. R.; GHOBADIAN, B. Effect of spray-drying conditions on physical properties of orange juice powder. **Drying Technology**, v. 23, n. 3, p. 657-668, 2005.

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.

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.

COELHO, J. C. **Elaboração de bebida probiótica a partir do suco de laranja fermentado com *Lactobacillus casei***. 2009. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

COLLARES, F. P.; KIECKBUSCH, T. G.; FINZER, J. R. A transição vítrea em produtos alimentícios. **Brazilian Journal**, v. 5, p. 117-130, 2002.

COLTRO, L.; MOURAD, A. L.; KLETECK R. M.; MENDONÇA, T. A.; GERMER, S. P. M. Assessing the environmental profile of orange production in Brazil. **The International Journal of Life Cycle Assessment**, v. 14, n. 7, p. 656-664, 2009.

COSTA, M. G. M. **Suco de abacaxi sonificado e fermentado por *Lactobacillus casei* para produção de uma nova bebida probiótica**. 2011. 110 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011.

DONKOR, O.N.; HENRIKSSON, A.; VASILJEVIC, T.; SHAH, N.P. Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. **International Dairy Journal**, v. 16, p. 1181-1189, 2006.

DONKOR, O.N.; NILMINI, S.L.I; STOLIC, P.; VASILJEVIC, T.; SHAH, N.P. Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. **International Dairy Journal**, v. 17, p. 657-665, 2007.

FAO/WHO. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization. **Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food**, London, Ontario, Canada. abr./mai. 2002. Disponível em: <http://www.who.int/food_safety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf>. Acesso em: 29 nov. 2011.

FARIA, C. P.; BENEDET, H. D.; GUERROUE, J. L. Parâmetros de produção de leite de búfala fermentado por *Lactobacillus casei*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 3, p. 511-516, 2006.

FONTELES, T. V. **Desenvolvimento de uma nova bebida funcional probiótica à base de suco de melão *Cantaloupe* sonificado**. 2011. 133 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011.

FONTELES, T. V.; COSTA, M. G. M.; JESUS, A. L. T.; RODRIGUES, S. Optimization of the Fermentation of *Cantaloupe* Juice by *Lactobacillus casei* NRRL B-442. **Food and Bioprocess Technology**, DOI 10.1007/s11947-011-0600-0, 2011.

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

GOLOWCZYC M. A.; SILVA, J.; ABRAHAM A.G.; DEANTONI, G.L.; TEIXEIRA, P. Preservation of probiotic strains isolated from kefir by spray drying. **Letters in Applied Microbiology**, v. 50, p. 7-12, 2010.

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.

GUO, X; KIM, J; NAM, H; PARK, S; KIM, J. Screening lactic acid bacteria from swine origins for multistrain probiotics based on in vitro functional properties. **Anaerobe**, p.1-6, 2010.

HONE, J. H. E.; HOWE, A. M. Viscosity of Colloidal Suspensions in Aqueous Gelatin. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 251, p. 193-199, 2002.

IAL - INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**, 4 ed, São Paulo, 2008.

JAYA, S.; DAS, H. Effect of maltodextrin, glycerol monostearate and tricalcium phosphate on vacuum dried mango powder properties. **Journal of Food Engineering**, v. 63, p. 125-134, 2004.

JAYASUNDERA, M; ADHIKARI, B; HOWES, T; ALDRED, P. Surface protein coverage and its implications on spray-drying of model sugar-rich foods: Solubility, powder production and characterization. **Food Chemistry**, v. 128, p. 1003-1016, 2011.

KARIM, A.A.; BHAT, R. Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 563-576, 2009.

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

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

KUDRA, T. Sticky Region in Drying – Definition and Identification. **Drying Technology**, v. 21, n. 8, p. 1457-1469, 2003.

KUN, S.; REZESSY-SZABÓ, J. M.; NGUYEN, Q. D.; HOSCHKE, A. Changes of microbial population and some components in carrot juice during fermentation with selected *Bifidobacterium* strains. **Process Biochemistry**, v. 43, p. 816-821, 2008.

LANGRISH, T.A.G.; CHAN, W.C.; KOTA K. Comparison of maltodextrin and skim milk wall deposition rates in a pilot-scale spray dryer. **Powder Technology**, v. 179, p. 84-89, 2007.

LIN, W.; YU, B; JANGC, S.; TSEND, H. Different probiotic properties for *Lactobacillus fermentum* strains isolated from swine and poultry. **Anaerobe**, v. 13, p. 107-113, jun./ago. 2007.

MACHADO, M. R. G. **Bebida de soja fermentada com *Lactobacillus acidophilus*: Viabilidade celular, avaliação sensorial, armazenamento e resposta funcional.** 2007. 117 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas - Pelotas, 2007.

MAPA – **Ministério de Agricultura e Pecuária.** Citrus. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/citrus>. Acesso em: Out, 2011.

MARIANO, R. L. R. **Manual de práticas em fitobacteriologia.** Recife: Editora Universitária, 2000. 171p.

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: An International Journal**, v. 29, n. 10, p. 1121-1131, 2011.

MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, Legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p. 109-122, 2006.

MORAIS, M. B.; JACOB, C. M. A. O papel dos probióticos e prebióticos na prática pediátrica. **Jornal de Pediatria**, v. 82, p. 189-197, 2006.

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 (*ananascomosus*) desidratados. **Revista Ciências Agrônômicas**, Fortaleza, v. 38, n. 3, p. 251-256, jul./set. 2007.

OLIVEIRA, M. N.; SIVIERI, K.; ALEGRO, J. H. A.; SAAD, S. M. I. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 1, jan./mar. 2002.

ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnologia de Alimentos – Componentes dos Alimentos e Processos.** 1 ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2005, v. 1.

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.

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, jun. 2011.

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

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

RBII, K; SUREL, O; BRAMBATI, N; BUCHERT, A; VIOLLEAU, F. Stud y of gelatin renaturation in aqueous solution by AFIFFF–MALS: Influence of a thermal pre-treatment applied on gelatin. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 511-514, 2011.

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, 2009.

RIVEROS, B.; FERRER, J.; BÓRQUEZ, R. Spray drying of a vaginal probiotic strain of lactobacillus acidophilus. **Drying Technology**, v. 27, n. 1, p. 123-132, 2009.

ROOS, Y. Characterization of food polymers using state diagrams. **Journal of Food Engineering**, v. 24, p. 339-360, 1995.

ROUSTAPOUR, O. R.; HOSSEINALIPOUR, M.; GHOBADIAN, B.; MOHAGHEGH, F.; AZAD, N. M. A proposed numerical-experimental method for drying kinetics in a spray dryer. **Jounal of Food Engineering**, v. 90, p. 20-26, 2009.

ROUSTAPOUR, O. R.; HOSSEINALIPOUR, M.; GHOBADIAN, B. An Experimental Investigation of Lime Juice Drying in a Pilot Plant Spray Dryer. **Drying Technology**, v. 24, n. 2, p. 181-188, 2006.

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 1, jan./mar. 2006.

SANTOS, J. S.; XAVIER, A. A. O.; BONEVENTI P.; de SOUZA, R. B.; GARCIA, S. Suco de uva suplementado com Lactobacillus acidophilus e oligofrutose. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n. 4, p. 839-844, out./dez. 2008.

SAULNIER, D. M. A.; SPINLER, J. K.; GIBSON, G. R; VERSALOVIC, J. Mechanisms of probiosis and prebiosis: considerations for enhanced functional foods. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 20, p. 135-141, 2009.

SILVEIRA, M. S.; FONTES, C. P. M. L.; GUILHERME, A. A.; FERNANDES, A. N.; RODRIGUES, S. Cashew apple juice as substrate for lactic acid production. **Food and Bioprocess Technology**, 2010.

SIRÓ, I; KÁPOLNA, E; KÁPOLNA, B; LUGASI, A. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance – A review. **Appetite**, v. 51, p. 456-467, 2008.

SOLVAL, K. M.; SUNDARARAJAN, S.; ALFARO, L; SATHIVEL, S. Development of cantaloupe (*Cucumis melo*) juice powders using spray drying technology. **LW T - Food Science and Technology**, v. 46, p. 287-293, 2012.

SPREEN, T.; JAUREGUI, C. World orange juice market: benefits of generic advertising. **British Food Journal**, v. 111, n. 8, p. 852-865, 2009.

TAN, L. W.; IBRAHIM, M. N.; KAMIL, R; TAIP, F. S. Empirical modeling for spray drying process of sticky and non-sticky products. **Procedia Food Science**, v. 1, p. 690-697, 2011.

TANAKA, D. L. **Influência da Desidratação por Spray Drying Sobre o Teor Ácido Ascórbico no Suco de Acerola (Malpighiassp)**. 2007. 56 f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição, Área de Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP, Araraquara, 2007.

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

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. 208, p. 433-440, 2011.

VERDURMEN, R. E. M.; VAN HOUWELINGEN, G.; GUNSING, M.; VERSCHUEREN, M.; STRAATSMA, J. Agglomeration in spray drying installations (the edecad project): Stickiness measurements and simulation results. **Drying Technology**, v. 24, n. 6, 721-726, 2006.

WANG, S; LANGRISH, T. A review of process simulations and the use of additives in spray drying. **Food Research International**, v. 42, p 13-25, 2009.

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

YOSHIIA, H.; SOOTTITANTAWAT, A.; LIUA, X.; ATARASHIA, T.; FURUTAA, T.; AISHIMAB, S.; OHGAWARAB, M.; LINKOC, P. Flavor release from spray-dried maltodextrin/gum arabic or soy matrices as a function of storage relative humidity. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 2, n. 1, p. 55-61, mar. 2001.

ZENG, X.Q.; PAN, D. D.; GUO, Y. X. The probiotic properties of *Lactobacillus buchneri* P2. **Journal of Applied Microbiology**, v. 108, p. 2059-2066, 2010.