



HUGO JUNIOR BARBOZA DE SOUZA

**DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO
DE MICROPARTÍCULAS SIMBIÓTICAS EM QUEIJO TIPO
MINAS PADRÃO: EFEITO DA INULINA NA VIABILIDADE
DE *LACTOBACILUS ACIDOPHILUS***

**LAVRAS – MG
2020**

HUGO JUNIOR BARBOZA DE SOUZA

**DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DE
MICROPARTÍCULAS SIMBIÓTICAS EM QUEIJO TIPO MINAS PADRÃO:
EFEITO DA INULINA NA VIABILIDADE DE *LACTOBACILUS ACIDOPHILUS***

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de Doutor.

Profa. Dra. Soraia Vilela Borges
Orientadora

Prof. Dr. Diego Alvarenga Botrel
Profa. Dra. Roberta Hilsdorf Piccoli
Coorientadores

**LAVRAS - MG
2020**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

de Souza, Hugo Junior Barboza.

Desenvolvimento, caracterização e aplicação de micropartículas simbióticas em queijo tipo Minas Padrão: Efeito da inulina na viabilidade de *Lactobacillus Acidophilus* / Hugo Junior Barboza de Souza. - 2020.

107 p. : il.

Orientador(a): Soraia Vilela Borges.

Coorientador(a): Diego Alvarenga Botrel, Roberta Hilsdorf Piccoli.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2020.

Bibliografia.

1. Spray drying. 2. Probióticos. 3. Perfil sensorial. I. Borges, Soraia Vilela. II. Botrel, Diego Alvarenga. III. Piccoli, Roberta Hilsdorf. IV. Título.

HUGO JUNIOR BARBOZA DE SOUZA

**DESENVOLVIMENTO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DE
MICROPARTÍCULAS SIMBIÓTICAS EM QUEIJO TIPO MINAS PADRÃO:
EFEITO DA INULINA NA VIABILIDADE DE *LACTOBACILUS ACIDOPHILUS***

**DEVELOPMENT, CHARACTERIZATION AND APPLICATION OF SYMBIOTIC
MICROPARTICLES IN STANDARD MINAS CHEESE: EFFECTS OF INULIN ON
THE *LACTOBACILUS ACIDOPHILUS* VIABILITY**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADO em 15 de dezembro de 2020.

Prof. Dr. Diego Alvarenga Botrel

UFLA

Profa. Dra. Roberta Hilsdorf Piccoli

UFLA

Prof. Dr. Evandro Galvão Tavares Menezes

UFV

Dra. Regiane Victória de Barros Fernandes

UFLA

Prof. Dr. Pedro Henrique Campelo-Félix

UFAM

Profa. Dra. Soraia Vilela Borges
Orientadora

**LAVRAS - MG
2020**

*Aos meus pais, Hugo Luiz de Souza e Maria do
Socorro Barboza de Souza, pelo incentivo,
dedicação, força, carinho e amor.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ser único, e presente em todos os momentos difíceis durante esta longa jornada da vida, sempre mostrando como a alegria, a paz e sorriso podem transformar o seu estado de espírito.

Aos meus momentos de meditação, pensamentos no futuro, e constante busca pelo equilíbrio emocional.

À minha amiga e orientadora Soraia Borges, que por diferentes formas, sempre esteve disposta a oferecer ajuda, por sua amizade, conversas, risadas, puxões de orelha e ressalvas.

Ao meu coorientador e amigo Diego Botrel, pela atenção, compreensão, paciência, disposição e conhecimentos a mim dedicados.

A professora Roberta Piccoli, por toda ajuda nos experimentos, pelas dicas, observações pelos cafés, boas conversas e companhia.

A minha amiga Heloísa Martins, por toda sua ajuda neste trabalho, companheirismo, conversas, risadas, cafés e amizade incondicional.

A minha amiga Amanda Lago, por sempre estar disposta a ajudar, contribuindo de forma imprescindível na construção deste trabalho, por sua gentileza, tranquilidade e amizade.

As minhas amigas Michele Ribeiro e Dina Hdz, pela ajuda durante a etapa de conclusão das análises, pelas palavras de incentivo e força neste período.

A minha amiga Regiane Fernandes, por dividir seus conhecimentos sempre de forma alegre e entusiasmada, sempre muito gentil com boas conversas e risadas.

Aos meus irmãos, Jhonny Willy e Arianne Nayara, pela força e palavras de esperança no futuro.

A minha filha, Lívia Souza, que pela simplicidade da sua existência, me traz forças para seguir pensando em dias melhores, mais alegres.

Aos meus amigos Gabriel, Lucas e Ramon, pelo companheirismo, paciência, brincadeiras, meditações, quarta da broca, festas, risadas, por dividir um pouco das angústias que sofre uma pessoa que está muito longe de casa e com uma difícil missão a ser concluída. Sem dúvida, sou grato pela amizade de vocês, loucuras!

Aos meus amigos do Creuza Amaral e Sérgio Campos, por toda ajuda na elaboração dos queijos, por toda gentileza, parceria e aprendizado.

As minhas amigas Amanda Umbelina, Renata Rocha, Lenízy Rocha, Fernanda Abrahão, pelo companheirismo, viagens, festas, risadas, almoços nos finais de semana. Obrigado por tudo meninas!

Aos amigos Gleyca Fernandes, Catarina Damasceno, Eloá Lourenço, Jayne Figueiredo, Laís Bianchetti, Gerson Marques, Maisa Mancini, Mariá Andrade, Alice Sousa, Jefferson Oliveira, Paula Giarolla, Lorrany Ramos, Janaína Medeiros, Beatriz Souza, Anely Maciel, por terem ajudado a cidade de Lavras e a Ufla, à serem lugares incríveis dentro das minhas lembranças.

Ao corpo técnico do Departamento de Ciência dos Alimentos, Lucilene Cândido, Felipe Furtini Haddad, Maria Lima e Paulo Custódio, pela ajuda diária, das mais variadas formas e todo companheirismo.

À Universidade Federal de Lavras e ao departamento de Ciência dos Alimentos, pelo crescimento profissional, e por todos os amigos que fiz durante os cinco anos de aprendizado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro.

OBRIGADO A TODOS VOCÊS!

RESUMO GERAL

O objetivo do presente estudo foi produzir e caracterizar as micropartículas contendo *Lactobacillus acidophilus* LA14, assim como, verificar a sua viabilidade e resistência gastrointestinal. Além disso, foi avaliado a aplicação das micropartículas na produção de queijo tipo Minas Padrão, a influência dos materiais de parede no perfil sensorial dos produtos obtidos. As micropartículas foram produzidas com isolado proteico de soro (IPS) e inulina (IN). Foram avaliados 4 tratamentos em delineamento totalmente casualizado contendo diferentes concentrações de IPS e IN, e pectina fixada a 2%, com duas repetições. A inulina atuou como espessante aumentando a viscosidade da emulsão ($1.2053 \leq k \leq 2.0565$). Os melhores tempos de reconstituição foram para os tratamentos com maior concentração de inulina. A solubilidade foi diminuída nos tratamentos contendo maior quantidade de inulina. Os produtos obtidos caracterizam-se por baixa umidade e atividade de água. O melhor resultado para eficiência de encapsulação (96,12%) foi encontrado na formulação com maior concentração de inulina, IPS/IN (1:2). O tamanho de partícula teve os maiores valores na presença de inulina e em maiores concentrações: D₃₂ (12,79 µm) e D₄₃ (14,89 µm). As análises de raio-x mostraram materiais com estruturas semelhantes, mas com formação de pequenas zonas cristalinas nos tratamentos com maior quantidade de inulina. A viabilidade, resistência a condições gastrointestinais simuladas e potencial probiótico dos queijos foram com a aplicação de inulina na matriz encapsulante, sendo eficiente na proteção dos microrganismos durante o processo de secagem, sem afetar a viabilidade dos probióticos microencapsulados, e apresentando potencial para aplicação e elaboração de alimentos funcionais. Através do teste descritivo CATA e da aceitação foi possível identificar que a inulina influenciou de maneira positiva na percepção dos atributos sensoriais durante os trinta dias de maturação dos queijos tipo Minas Padrão formulados.

Palavra-chave: *Spray drying*. Probióticos. Viabilidade celular. Resistência gastrointestinal. Queijo tipo Minas Padrão. Perfil sensorial.

GENERAL ABSTRACT

The objective of the present study was to produce and characterize microparticles containing *Lactobacillus acidophilus* LA14, as well as to verify their viability and gastrointestinal resistance. In addition, an application of microparticles in the production of standard Minas cheese was evaluated, the influence of the wall materials in the sensory profile of the products obtained. The microparticles were produced with whey protein isolate (WPI) and inulin (IN). Four treatments were evaluated in a completely randomized design containing different concentrations of WPI and IN, and pectin fixed at 2%, with two replications. An inulin acted as a thickener, increasing the viscosity of the emulsion ($1.2053 \leq k \leq 2.0565$). The best reconstitution times were obtained in treatments with the highest concentration of inulin. Solubility was decreased in treatments containing greater amounts of inulin. The products obtained are characterized by low humidity and water activity. The best result for encapsulation efficiency (96.12%) was found in the formulation with higher concentration of inulin, WPI/IN (1:2). The particle size had the highest values in the presence of inulin and in the higher concentrations: D_{32} (12.79 μm) and D_{43} (14.89 μm). The X-ray analysis revealed materials with similar structures, however with the formation of small crystalline zones in treatments with a greater amount of inulin. The viability, resistance to simulated gastrointestinal conditions and the probiotic potential of the cheeses occurred with the application of inulin in the encapsulating matrix, being efficient in the protection of microorganisms during the drying process, without affecting the viability of microencapsulated probiotics, and presenting potential for application and functional food formulation. Through the descriptive test CATA and acceptance, it was possible to identify that inulin influenced positively the perception of sensory attributes during the thirty days of maturation of formulated standard Minas cheese.

Keywords: Spray drying. Probiotics. Cell viability. Gastrointestinal resistance. Standard Minas cheese. Sensory profile.

SUMÁRIO

	PRIMEIRA PARTE	10
1	INTRODUÇÃO	10
2	REFERENCIAL TEÓRICO	12
2.1	Probióticos, pré bióticos e simbióticos	12
2.2	Microencapsulação de probióticos	14
2.3	Secagem por <i>Spray Dying</i>	15
2.3.1	Fatores que afetam a microencapsulação de probióticos por <i>spray drying</i>	17
2.4	Materiais carreadores	18
2.5	Queijo Minas Padrão	21
2.5.1	Características sensoriais em queijos	24
2.5.2	Análise de CATA e teste de aceitação	26
3	CONSIDERAÇÕES GERAIS	28
	REFERÊNCIAS	29
	SEGUNDA PARTE – ARTIGOS	40
	ARTIGO 1 Atividade simbiótica: Encapsulação por <i>spray drying</i> de <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA14 com isolado proteico de soro/inulina.....	40
	ARTIGO 2 - Aplicação de micropartículas contendo <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA14 na produção de queijo tipo Minas Padrão probiótico e avaliação do perfil sensorial durante o período de maturação.	73
	CONCLUSÃO GERAL	107

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

O constante crescimento do interesse dos consumidores por alimentos funcionais que podem contribuir para hábitos alimentares saudáveis tem impulsionado pesquisas de inovação, o desenvolvimento de alimentos que incorporam ou aprimoram ingredientes nutricionais com potenciais benefícios à saúde. Alimentos funcionais podem ser definidos como suplementos alimentares que, além de seus valores nutricionais, podem modular beneficentemente as funções do corpo tornando cada vez mais populares.

Os probióticos são microrganismos vivos que conferem benefícios à saúde de um hospedeiro quando administrados em quantidades adequadas. Isso pode ocorrer através da regulação direta ou indireta do sistema imunológico, onde as cepas específicas afetam significativamente a produção de imunoglobulinas, respostas de anticorpos e outras respostas imunes celulares que podem ajudar a melhorar a saúde e a resistência a doenças (MATAR *et al.*, 2001).

Atualmente, *Lactobacillus Acidophilus* é um probiótico pelo qual os consumidores podem ingerir células probióticas contidas em veículos alimentícios como iogurte e bebidas lácteas.

A microencapsulação de probióticos, como agentes bioativos, tornou-se uma alternativa para preservar os microrganismos viáveis não apenas durante o armazenamento e digestão, mas também durante o processamento dos alimentos (COOK *et al.*, 2012). O método mais usado para desenvolver micropartículas é através da técnica de *spray drying*, pois compreende os menores custos de produção em nível industrial para o desenvolvimento de ingredientes bioativos.

Na microencapsulação de probióticos, os materiais da parede têm um papel importante na proteção de microrganismos (ECKERT *et al.*, 2017; HUANG *et al.*, 2017). Para que o processo de microencapsulação por *spray drying* apresente sucesso e boa eficiência é necessário o uso de materiais de parede que possuam características de interesse, garantindo uma adequada encapsulação e apresentando propriedades ideais no manuseio, na proteção do material bioativo, na estocagem e na reconstituição.

Os materiais da parede podem consistir em carboidratos, proteínas ou fruto-oligossacarídeos, devido ao seu grande campo de aplicações na indústria alimentícia. A proteção do material bioativo conferida pelo processo de microencapsulação por *spray drying*,

se tornou ao longo dos anos uma das principais formas para viabilizar a produção de alimentos probióticos com maior vida útil, bem como maior resistência as condições gastrointestinais, de modo a tornar mais fácil a colonização e os efeitos benéficos desses microrganismos no intestino.

Os probióticos são encontrados principalmente em produtos lácteos como iogurte, leite fermentado e alguns tipos de queijos, representando desta forma, os principais produtos funcionais vendidos em todo o mundo. A dose efetiva recomendada de um probiótico está entre 10^6 à 10^9 células viáveis por dia, para atingir o efeito desejado na saúde. No entanto, ainda existem muitas questões sobre a eficácia, especialmente sua sobrevivência desde a sua produção até o seu local de ação.

O queijo Minas Padrão é um queijo maturado consumido extensivamente no Brasil. Por ser um produto maturado amplamente consumido no Brasil, parte da sua carga microbiota natural é responsável pelo processo de maturação, onde compostos responsáveis pelo seu aroma e sabor são desenvolvidos.

Portanto, os objetivos deste trabalho foram avaliar o potencial probiótico de micropartículas contendo isolado proteico de soro e inulina, bem como a influência dessas micropartículas nas características funcionais e perfil sensorial do queijo tipo Minas Padrão ao longo do tempo de maturação, bem como avaliar os atributos sensoriais durante o período de maturação do queijo tipo Minas Padrão, foi realizado o teste CATA e de aceitação, com aplicação de uma ANOVA multivariada (MANOVA) para melhor identificação dos atributos ao longo do tempo.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Probióticos, prébióticos e simbióticos

Os probióticos são chamados de bactérias ou leveduras vivas presentes na flora gastrointestinal (OAK; JHA, 2018). Segundo a Associação das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) e a Organização Mundial da Saúde (OMS), eles têm efeitos positivos em relação a saúde do hospedeiro, quando são ingeridos ou implementados localmente em contagens adequadas (COOK *et al.*, 2012).

Recomenda-se que os alimentos que contenham bactérias probióticas estejam na faixa de 10^8 a 10^9 unidades formadoras de colônias (UFC)/g antes da ingestão para garantir que o mínimo terapêutico suficiente de 10^6 - 10^7 UFC/g pode atingir o cólon (GUEDES *et al.*, 2019; NAZZARO *et al.*, 2009). Infelizmente, a maioria dos microrganismos não tem capacidade de sobreviver em grande quantidade devido ao baixo pH (pH = 2) no suco gástrico e/ou exposição ao oxigênio que limita sua eficácia na maioria dos alimentos funcionais (SHORI, 2017).

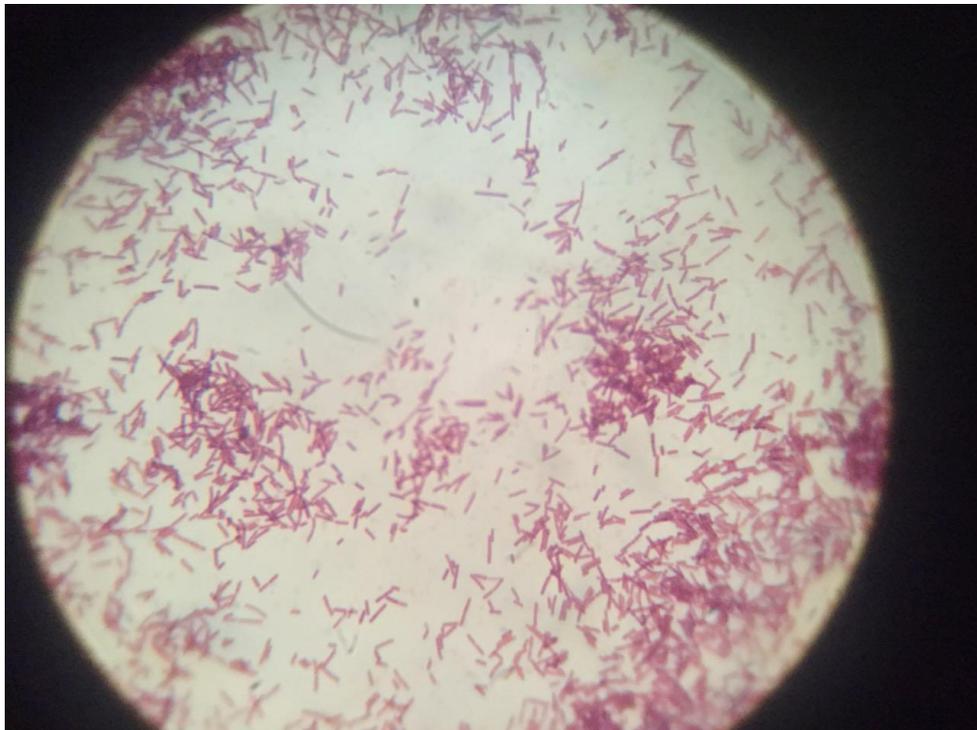
A alta suscetibilidade dos probióticos à perda de viabilidade significa que estratégias efetivas de encapsulação são necessárias para proteger os microrganismos nas etapas de fabricação, transporte e armazenamento de um produto, bem como durante a passagem pelo trato digestivo superior e depois serem liberados no lúmen intestinal (YEUNG *et al.*, 2016).

Muitas investigações foram conduzidas sobre os efeitos promotores de saúde de probióticos para pessoas e ratos de laboratório e foi demonstrado que eles estavam desempenhando um papel no tratamento de várias doenças agudas e crônicas, como por exemplo, doenças inflamatórias intestinais (FUJIYA; UENO; KOHGO, 2014), doenças hepáticas alcoólicas e não alcoólicas (AFLD e NAFLD) (FEROLLA *et al.*, 2015), obesidade (JOHN; MULLIN, 2016), diabetes (BORDALO *et al.*, 2017) e câncer (LESLIE, 2015). Seus efeitos na promoção da saúde são atribuídos à sua capacidade de fornecer nutrientes fundamentais, metabolizar componentes indigestos e evitar a colonização de organismos patogênicos oportunistas (ROUND; MAZMANIAN, 2009).

O interesse na busca de microrganismos de diferentes matrizes alimentares aumentou devido ao isolamento de novas espécies bacterianas com potencial para melhorar a palatabilidade, processabilidade e valor nutricional de uma ampla gama de alimentos (MANINI *et al.*, 2016). Entre as espécies isoladas, as mais importantes são as bactérias do ácido láctico, que foram incorporadas em alimentos fermentados, algumas das quais com potencial probiótico (LINARES *et al.*, 2017).

As espécies pertencentes ao gênero *Lactobacillus* são os probióticos mais estudados para incorporação em alimentos e têm sido amplamente utilizados como ingredientes ativos em produtos lácteos funcionais (AMIRI *et al.*, 2019; MEIRA *et al.*, 2015). O *L. acidophilus* (FIGURA 1) é uma das floras microbianas mais importantes presentes no trato intestinal humano e entre os grupos de probióticos mais importantes para promover a saúde humana (HYMES *et al.*, 2016; JOHNSON *et al.*, 2013; OUWEHAND *et al.*, 2014). Eles podem equilibrar os microrganismos entéricos e melhorar o ambiente intestinal humano quando atingem uma quantidade suficiente (ARORA *et al.*, 2012; SOHAIL *et al.*, 2013).

Figura 1 - *Lactobacillus Acidophilus* LA 14.



Fonte: Do autor (2020).

O *L. acidophilus* é um microrganismo probiótico disponível em alimentos convencionais e suplementos alimentares, onde a maioria dos alimentos probióticos já existentes no mercado, como leite fermentado e iogurte, são produtos frescos e geralmente são consumidos em dias ou semanas após a fabricação. *L. acidophilus* produz compostos antimicrobianos, incluindo ácidos orgânicos, peróxido de hidrogênio, diacetil, amônia, dióxido de carbono, etanol e bacteriocinas. Muitas cepas do gênero *Lactobacillus* são geralmente aceitas como probióticos humanos. Assim, diferentes produtos comercialmente são inoculados com cepas de *L. acidophilus* (OZOGUL; YAZGAN; OZOGUL, 2011).

2.2 Microencapsulação de probióticos

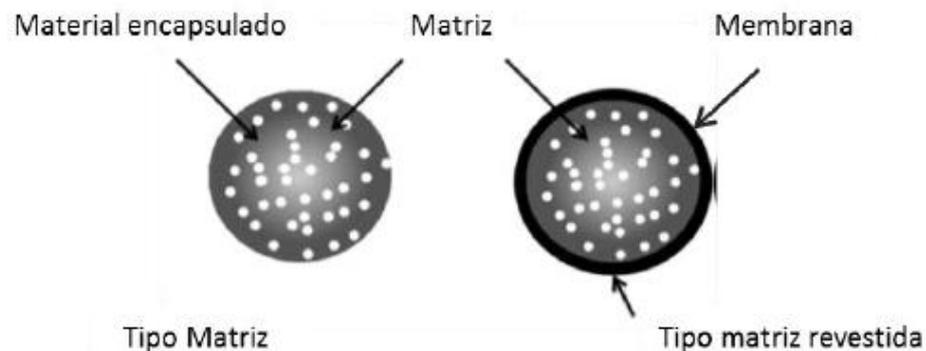
A microencapsulação é uma tecnologia amplamente usada para melhorar a estabilidade e a biodisponibilidade de compostos bioativos (GHARSALLAOUI *et al.*, 2007). As microcápsulas ou micropartículas são um produto da microencapsulação e contêm compostos bioativos no núcleo, envolvidos por um revestimento de materiais de parede.

A parede fornece uma barreira física que dificulta a difusão molecular e reações químicas, a fim de melhorar a estabilidade de compostos encapsulados (TAGUCHI *et al.*, 2016). Esta parede é formada por uma membrana semipermeável, esférica, fina e forte envolvendo um interior sólido/líquido, com diâmetro variando de alguns micrômetros a 1 mm.

A microencapsulação pode ser utilizado para muitas aplicações na indústria de alimentos, incluindo estabilização do material encapsulado, controle de reações oxidativas, fornecimento de liberações controladas, mascarar sabor, cor e odores, estendendo a vida de prateleira e protegendo componentes contra perdas nutricionais (ANAL; SINGH, 2007).

O material presente dentro da micropartícula é chamado de núcleo ou material encapsulado, e o material de parede é encontrado na membrana da micropartícula (FIGURA 2). O material contido no núcleo pode ser um material cristalino, uma emulsão, uma suspensão de sólidos, ou células vivas de microrganismos.

Figura 2 - Representação esquemática dos tipos de micropartículas.



Fonte: Adaptado de Burgain *et al.* (2011).

A microencapsulação de probióticos, como agentes bioativos, tornou-se uma alternativa para preservar os microrganismos viáveis não apenas durante o armazenamento e digestão, mas também durante o processamento de alimentos (COOK *et al.*, 2012). O método mais usado para desenvolver microcápsulas é a secagem por *spray drying*, pois compreende os menores custos

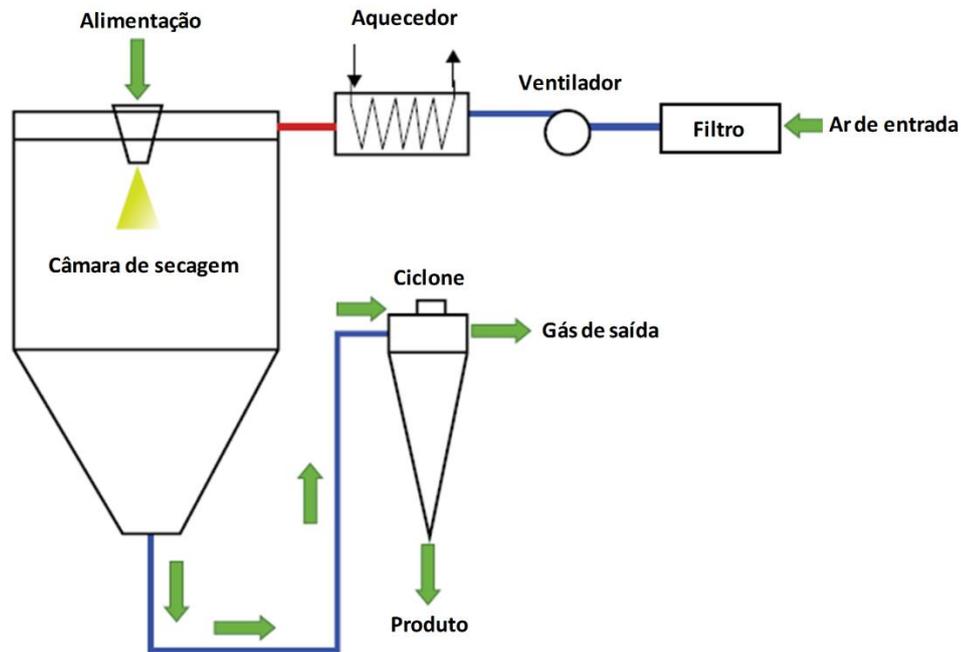
de produção em nível industrial para o desenvolvimento de ingredientes bioativos (BERNUCCI *et al.*, 2017).

Na microencapsulação de probióticos, os materiais da parede têm um papel importante na proteção de microrganismos (ECKERT *et al.*, 2017; HUANG *et al.*, 2017). Os materiais da parede podem consistir em carboidratos, proteínas ou polissacarídeos de baixo peso molecular. As proteínas podem proteger as células contra danos pela estabilização dos componentes da membrana. Em particular, as proteínas do soro de leite possuem propriedades funcionais variadas, como emulsificação, gelificação e estabilidade da espuma (KAREB; AÏDER, 2019). Os polissacarídeos considerados como fibra alimentar (inulina, quitosana, alginato, hidroxipropilmetilcelulose) podem proteger microrganismos contra condições gástricas e permitir sua liberação no cólon com contagens apropriadas (COOK *et al.*, 2012; DÍAZ-VERGARA *et al.*, 2017; ROSOLEN *et al.*, 2019; YONEKURA *et al.*, 2014).

2.3 Secagem por *Spray Drying*

A secagem é um processo amplamente usado para preservação de alimentos, garantindo uma vida útil estável e estendida, reduzindo os custos de transporte e facilitando o comércio (HUANG *et al.*, 2017). Entre as técnicas de secagem, a secagem por *spray drying* é uma das mais predominantes na indústria de alimentos segundo Schuck *et al.* (2016). Este tipo de secagem ocorre em alguns segundos, onde o líquido de alimentação é pulverizado em gotículas finas (10–150 μm) que são direcionadas para um fluxo de ar quente e seco (150°C–250°C) (BROECKX *et al.*, 2016). O processo de secagem por *spray drying* é dividido em quatro etapas: preparação de uma dispersão ou emulsão, homogeneização da dispersão, atomização da emulsão alimentar e desidratação das partículas atomizadas (SHAHIDI; HAN; 2009). Na otimização do processo, existem pelo menos quatro grupos de critérios que podem ser considerados: (a) propriedades dos materiais de parede; (b) características dos materiais de núcleo; (c) especificação da emulsão de alimentação e (d) condições da secagem por *spray drying*. A Figura 3 mostra o esquema de um secador dor *spray drying*.

Figura 3 - Esquema de um secador por *Spray drying* de ciclo aberto.



Fonte: Adaptado de Anandharamkrishnan e Ishwarya (2015).

Durante o processo de *spray drying* ou secagem por atomização, fluxos de líquidos são transformados em gotículas, sendo que o procedimento mais comum é a atomização por bicos de pressão, em que a corrente de líquido é passada através de uma abertura estreita, gerando efeitos de homogeneização e pulverização (PATEL; PATEL; SUTHAR, 2009). É necessária uma compreensão detalhada das propriedades físicas do material a ser atomizado e subsequentemente seco, bem como as propriedades do pó resultante (por exemplo, densidade aparente, fluidez e gordura livre) são necessárias para garantir a seleção do atomizador mais apropriado (SCHUCK *et al.*, 2016). Existem alguns pontos críticos a serem considerados durante o processo de atomização. A instalação do atomizador certo é essencial para o sucesso da secagem por *spray drying*. O atomizador deve cumprir várias funções importantes resumidos como: (1) dispersar o material de alimentação em pequenas gotas, com boa distribuição dentro do secador e que se misture bem com o gás quente; (2) as gotículas produzidas não devem ser muito grandes para que possam ser completamente secas, e nem tão pequenas, para que não seja difícil a recuperação do produto (pequenas partículas também podem superaquecer, tornando-se um material levemente queimado) e (3) o atomizador também deve atuar como um dispositivo de medição, controlar a taxa na qual o material é alimentado no secador (PATEL; PATEL; SUTHAR, 2009).

Os desenvolvimentos mais recentes neste campo da atomização estão focados na atomização ultrassônica e sprays induzidos por alta tensão, bem como em estudos de secagem com gota única (ADEK *et al.*, 2015; CHEN, 2010; FU; WOO; CHEN, 2012; SCHUTYSER; PERDANA; BOOM, 2012). No entanto, deve-se notar que as investigações dessas abordagens de atomização estão no momento predominantemente limitadas a fundamentos de pesquisas, e não a implementação industrial, devido principalmente a questões de escala, complexidade percebida da instalação e complexidade inerente aos sistemas líquidos, bem como altos custos e falta de equipamentos disponíveis (SULLIVAN *et al.*, 2019).

2.3.1 Fatores que afetam a microencapsulação de probióticos por *spray drying*

O conceito de probióticos para a saúde intestinal e sua incorporação em produtos alimentícios tem evoluído em resposta a um aumento na conscientização sobre a saúde e a tendência de usar "alimentos como remédios" entre os consumidores. A importância industrial das culturas de ácido láctico em relação ao setor de alimentos fermentados é bem conhecido.

O manuseio de culturas líquidas a granel em escala industrial foi o principal gargalo identificado nas indústrias de alimentos fermentados. O uso de culturas iniciadoras de ácido láctico congeladas foi a metodologia inicialmente praticada para preservar e manusear as culturas de ácido láctico. O custo envolvido no transporte em baixa temperatura das culturas congeladas e o risco envolvido nos procedimentos de descongelamento antes de seu uso foram as principais limitações desta técnica.

Embora a liofilização tenha demonstrado preservar a viabilidade celular, quanto maior o tempo de processamento e o custo do processo são suas principais desvantagens. Assim, o advento da tecnologia de encapsulação e a introdução da secagem por spray como uma técnica de microencapsulação foi visto como um grande avanço neste campo.

O menor custo de produção, taxa de secagem rápida, eficiência energética e capacidade de produção contínua do processo de secagem por pulverização, justifica como uma técnica adequada para encapsulação de culturas iniciadoras de ácido láctico. A desvantagem é que a alta temperatura usada no processo pode não ser adequada para encapsular culturas bacterianas probióticas. Neste ponto, as temperaturas de saída maiores que 85–90°C são letais para os probióticos.

É conhecido que sob as mesmas condições de temperatura de entrada, uma taxa de entrada de alimentação mais alta teve uma temperatura de saída mais baixa e uma taxa de sobrevivência aumentada.

O dano ao calor da membrana celular é um dos danos-alvo mais suscetíveis durante a secagem por pulverização. As altas temperaturas durante a secagem por spray fazem com que os poros celulares vazem as substâncias intracelulares (ANEKELLA; ORSAT, 2013). No entanto, o ajuste adequado e o controle das condições de processamento, como as temperaturas de entrada e saída, podem alcançar culturas encapsuladas viáveis com uma distribuição de tamanho de partícula desejada.

Outros fatores que afetam a viabilidade do probiótico seco por pulverização são os tipos de cepas e sua tolerância às condições de estresse, o material de parede (transportador), a temperatura de secagem e o tempo de exposição ao calor (antes do processo de secagem por pulverização) a atividade de água e as condições de armazenamento (após o processo de secagem por pulverização) (MARTIN *et al.*, 2015).

2.4 Materiais carreadores

Os materiais carreadores ou materiais de parede são feitos por biopolímeros que formam uma estrutura na qual fica armazenado o material bioativo encapsulado. A composição do material da parede influencia a taxa de liberação de compostos bioativos presos nela, onde a seleção do material de parede adequado é essencial para alcançar a taxa de liberação desejada e a alta eficiência de encapsulação do composto bioativo durante a microencapsulação por *spray drying*. Os materiais de encapsulação usados para a secagem por *spray drying* devem ter boa capacidade de formação de emulsão, capacidade de formação de filme e baixa viscosidade (BAJAJ; MARATHE; SINGHAL, 2021).

A parede da microcápsula fornece uma barreira física entre o núcleo e o ambiente. Em 1993, Shahidi e Han (2009) propuseram a introdução de microencapsulação na indústria de alimentos para facilitar o uso de compostos sensíveis durante a fabricação, garantindo melhor estabilidade.

O soro de leite é considerado um subproduto ou um produto secundário da fabricação de queijos. Representa entre 70 e 90% do volume original de leite e cerca de 50% dos sólidos do leite estão presentes no soro de leite. Vale ressaltar que o soro de leite já é utilizado na produção de alimentos para consumo humano, ração animal, aplicações agrícolas, entre outras aplicações. O alto volume e número de compostos orgânicos presentes no soro de leite são responsáveis, não apenas pelo seu valor nutricional, mas também por problemas ambientais quando descartados de forma inadequada (GIRALDO *et al.*, 2017).

Isolado proteico de soro (IPS) é uma das principais fontes de proteínas globulares utilizadas na indústria de alimentícia devido suas propriedades emulsificantes, formadora de gel e espuma (BERNARD *et al.*, 2011). Além disso, apresenta ótima qualidade nutricional e propriedades funcionais inerentes que vão de encontro com as demandas do encapsulação (EZHILARASI *et al.*, 2013).

A fração de proteína de soro de leite é obtida a partir do soro de leite resultante do processo de fabricação do queijo através da caseificação. As proteínas de soro de leite possuem cerca de 15% a 20% do total de proteínas do leite (CAMARGO *et al.*, 2018; PATEL, 2015). As proteínas do soro são formadas por β -lactoglobulina (35% a 65%) e α -lactalbumina (12% a 25%). Em quantidades menores, possui imunoglobulinas (8%), albumina (5%) e lactoferrina (1%) como componentes principais. É rica em aminoácidos de cadeia ramificada, como leucina, isoleucina e valina; bem como a cisteína (PATEL, 2015).

O soro de leite pode ser encontrado para comercialização como: concentrado (contendo lipídios e lactose juntamente com proteínas - 29% a 89%), isolado (90% de proteína) ou hidrolisado (parcialmente digerido, facilitando o metabolismo) (CAMARGO *et al.*, 2018; PATEL, 2015).

Existem várias funcionalidades atribuídas ao isolado proteico do soro (IPS) em pesquisa como: aumento da qualidade tecnológica dos produtos de panificação (CAMARGO *et al.*, 2018), redução do estresse oxidativo e aumento da massa muscular (PATEL, 2015).

Introduzidas em uma revisão de Katouzian e Jafari (2016), o isolado proteico de soro (IPS) foi usado com outros materiais de parede no encapsulamento para a liberação controlada de vitaminas.

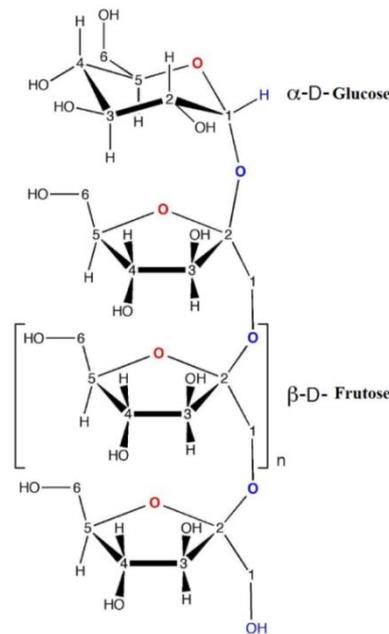
O uso de IPS deve-se principalmente ao alto rendimento de encapsulação e à alta estabilidade durante o armazenamento, enquanto os outros materiais da parede (como, amido resistente) podem contribuir para diminuir as taxas de solubilidade e liberação (PÉREZ-MASIÁ *et al.*, 2015).

O uso de misturas de biopolímeros com diferentes propriedades funcionais pode permitir o aumento da eficiência do encapsulação e do prazo de validade das microcápsulas

A inulina ($GP_{\text{médio}} = 12$) é obtida industrialmente a partir da extração com água quente da fonte vegetal, seguida de refino e secagem. Três tipos de produtos comerciais podem ser elaborados: a inulina com alto GP ($GP_{\text{médio}} = 25$), obtida a partir de separação física; a oligofrutose ($GP_{\text{médio}} = 4$), obtida por meio da hidrólise enzimática parcial da inulina; e a mistura de inulina e oligofrutose, obtida a partir da combinação de 50% de inulina de alto GP e de 50% de oligofrutose (ROBERFROID; DELZENNE, 1998). O comprimento da cadeia afeta certas

propriedades da inulina e determinadas funções e aplicações tecnológicas. Inulina de cadeia longa é termicamente mais estável, menos solúvel e mais viscosa (WADA *et al.*, 2005). A Figura 4 representa a estrutura química da inulina.

Figura 4 - Estrutura química genérica da inulina (n = 2–60).



Fonte: Adaptado de Barclay *et al.* (2010).

A inulina é um oligossacarídeo do tipo frutano, encontrado em uma ampla variedade de plantas, reconhecido como um composto prebiótico. É uma fibra fermentável que não pode ser digerida pelas enzimas do trato gástrico, estimulando seletivamente o crescimento de bactérias benéficas do cólon (NUNES *et al.*, 2018; PINTO *et al.*, 2015). Então, o consumo de inulina provoca um estímulo seletivo intestinal dessas bactérias, o que é benéfico para a saúde humana (ROBERFROID, 2000). Outro efeito biológico atribuído ao consumo de inulina é ação das fibras alimentares, melhorias na biodisponibilidade do cálcio (SAÉNZ *et al.*, 2009), anticâncer (KORBELIK; COOPER, 2007) e propriedades imunomodulatórias (BEIRÃO-DA-COSTA *et al.*, 2013; BUSTOS-GARZA; YÁÑEZ-FERNÁNDEZ; BARRAGÁN-HUERTA, 2013). Além dos benefícios relacionados à saúde, a inulina possui baixa capacidade de hidrólise e, permite assim, a preparação de microcápsulas resistentes a variações de pH (DIMA *et al.*, 2016). Esta propriedade sugere que a inulina é adequada para a proteção de compostos bioativos que são suscetíveis à degradação ao longo do trato digestivo humano, uma vez que sua liberação ocorre apenas no intestino, onde são absorvidos (BEIRÃO-DA-COSTA *et al.*, 2013). A inulina em

mistura com a água demonstra propriedades similares à gordura, sendo um potencial substituto (O'BRIEN *et al.*, 2003; ZIMERI; KOKINI, 2002).

A pectina é um polissacarídeo aniônico solúvel em água, obtido a partir da casca de frutas cítricas e maçãs (MENDANHA *et al.*, 2009). A estrutura da pectina é um esqueleto aniônico de polissacarídeo de ácidos d-galacturônicos α -1, 4 ligados (CHAN *et al.*, 2017), e pode produzir uma emulsão estável a uma concentração entre 1% e 2%.

Em particular, a pectina, é um polímero natural que pode potencialmente formar microcápsulas biocompatíveis por causa de sua propriedade de gelificação, formando uma "caixa de ovos" por meio de interações eletrostáticas entre os ânions carboxilatos nos cátions de pectina e cálcio (DENG *et al.*, 2008; JONASSEN *et al.*, 2013). A "gelificação da caixa de ovos" ajuda a pectina a formar um hidrogel sólido em uma solução aquosa sem nenhuma substância perigosa. Além disso, a pectina é um material adequado para cápsulas de administração de agentes cosméticos devido ao seu efeito anti-oxidativo e desempenho de hidrogel, o que proporciona uma retenção de umidade para fornecer e manter a umidade, e a sua biocompatibilidade e biodegradabilidade. Pesquisas mostraram que a pectina pode maximizar a estabilidade de alguns agentes ativos por causa de seu efeito antioxidante (RO *et al.*, 2015). As propriedades funcionais de uma pectina estão relacionadas à estrutura da pectina (WICKER *et al.*, 2014), que é amplamente impactado pelo método de extração. No entanto, ainda há falta de informações claras sobre a relação entre estrutura/função e extração.

Uma matriz encapsulante com múltiplos polímeros tem sido favorecida, pois pode melhorar as propriedades físicas das microcápsulas, aumentar a eficiência do encapsulamento e reduzir o custo (FANG; BHANDARI, 2011; SANSONE *et al.*, 2011). Desta forma, a utilização de IPS, inulina e pectina, podem contribuir para maior proteção e viabilidade de probióticos microencapsulados por *spray dryng* durante aplicação e armazenamento.

2.5 Queijo Minas Padrão

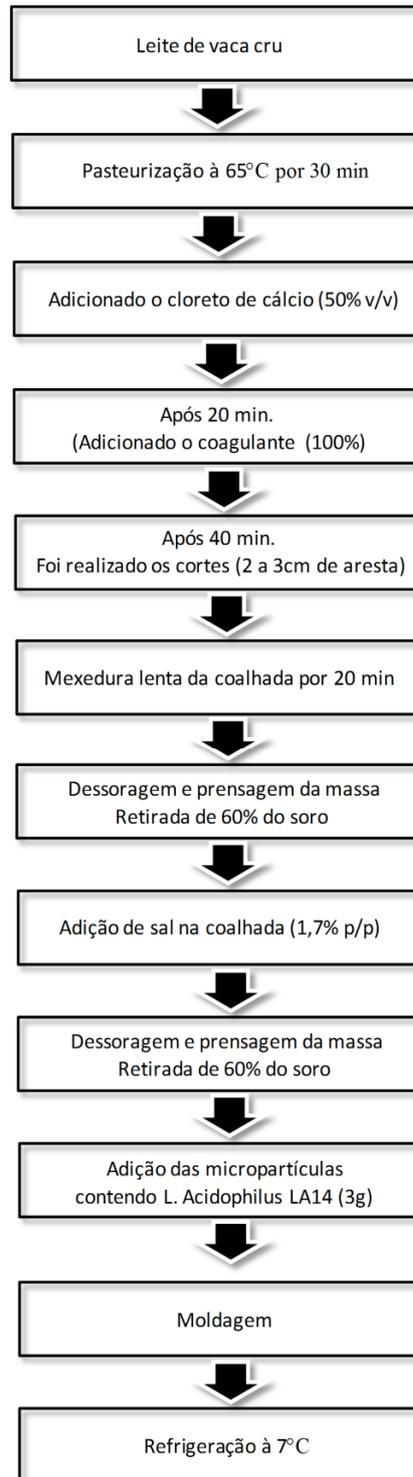
Uma variedade de alimentos contendo probióticos foi desenvolvida e está disponível no mercado, como iogurtes, bebidas lácteas, sorvetes, entre outros (KANDYLIS *et al.*, 2016; ROUHI; SOHRABVANDI; MORTAZAVIAN, 2013; TURKMEN; AKAL; ÖZER, 2019). No entanto, os laticínios se destacam como principal veículo de probióticos porque esses produtos têm sido tradicionalmente fonte de bactérias ácido-láticas, com propriedades funcionais potenciais (HALLER *et al.*, 2001; RUIZ *et al.*, 2016; TAMANG *et al.*, 2009).

Entre os laticínios, o queijo se destaca por conter bactérias probióticas que protegem

esses microrganismos durante sua passagem pelo trato gastrointestinal (CRUZ *et al.*, 2009). Essa proteção resulta em maior eficácia probiótica quando os queijos são usados como veículos de bactérias probióticas (RANADHEERA; BAINES; ADAMS, 2010). Esses queijos são produzidos no estado de Minas Gerais e incluem os tipos moles (ou seja, Frescal), semiduros e duros (Padrão, Meia-cura, Serro, Canastra, etc.).

O queijo Minas Padrão é um queijo prensado, curado, semiduro, seco, firme, com casca fina e amarela, de cor branca cremosa por dentro, com olhos irregulares, de sabor leve e de baixa acidez amplamente consumido no Brasil (FURTADO; LOURENÇO NETO, 1994; TEIXEIRA; FONSECA, 2008). É um produto que requer refrigeração durante o armazenamento e comercialização, pois temperaturas mais altas podem diminuir sua qualidade (OLIVEIRA, 1986). O fluxograma de produção do queijo tipo Minas Padrão pode ser observado na (FIGURA 5).

Figura 5 - Fluxograma de fabricação dos queijos tipo Minas Padrão com adição de micropartículas contendo *Lactobacillus acidophilus* LA 14.



Fonte: Do autor (2020).

Considerada como uma das mais relevantes etapas de fabricação de queijos, a maturação se expressa pela ação de fungos, leveduras, bactérias lácticas e suas respectivas enzimas, por

meio de bioprocessos que permitem diferenciar os queijos quando são terminados. Este estágio depende de cada queijo que se deseja produzir, levando-se em consideração que o tempo, para esta fase, baseia-se nas condições ambientais e no substrato proporcionado a cada tipo de microrganismo envolvido no processo (AMIOT, 1991; FURTADO, 2003).

Sistema complexo de cura, também, define o processo de maturação, pois vários são os fatores que compõem este mecanismo, tais como tempo, temperatura, composição do ar e do substrato, além da umidade e sal. Por conseguinte, a interação deliberada a todos estes agentes com o microrganismo alvo, define as qualidades sensoriais e físicas do queijo em seu ponto de comercialização (LOURENÇO NETO, 2013).

Ordóñez (2005), definiu os processos bioquímicos como sendo responsáveis por modificações importantes às características presentes no produto final. Atributos como aroma, sabor, e textura são pontos diretos da interação complexa do substrato nutritivo presente no alimento, microrganismos e seus metabólitos, resultando em uma série de tipos deste produto.

É conhecido que o sabor, também seja acentuado durante a etapa final de maturação, sendo esta característica recorrente da ação enzimática, degradação de proteínas, gordura e lactose, manifestando o desenvolvimento de inúmeros compostos voláteis que contemplam na harmonização do sabor característico dos queijos, os quais dependem de forma direta, do teor de cada componente do leite e sua origem, além de fatores como tempo e qualidade de maturação a que é submetido (KOPPEL; CHAMBERS, 2012).

O período de maturação determina o período em que as interações bioquímicas estarão em plena ação, o que reflete diretamente na preferência do consumidor que tem autonomia de escolha desde a predileção sensorial, bem como o valor agregado ao produto final. O tempo de maturação distingue os consumidores em grupos distintos, ou seja, quanto mais extenso o período de maturação, de 30 a 45 dias, mais intensas serão as características que definem o queijo que apresenta massa mole e resíduo de amargor. Por outro lado, caso a maturação seja limitada entre 10 a 15 dias, as características sensoriais são mais suaves, o que, muitas vezes, agrada mais ao paladar do consumidor brasileiro (RIBEIRO, 2012).

Além de proporcionar o desenvolvimento de sabor e aroma, as mudanças decorrentes do período de maturação atribuem à massa características distintas de aspecto, textura e composição final dos queijos, garantindo, assim, um produto terminado de qualidade diante do aspecto sensorial (LOURENÇO NETO, 2013).

2.5.1 Características sensoriais em queijos

Vários fatores influenciam as características sensoriais dos queijos. Dentre eles, destacam-se a composição microbiológica e química do leite, principalmente para os queijos elaborados com leite cru (RINCÓN *et al.*, 2017).

O queijo tem bom potencial para carrear microrganismos probióticos para o intestino humano, e a produção de queijos probióticos com características sensoriais aceitáveis ou satisfatórias é alcançável (KARIMI; SOHRABVANDI; MORTAZAVIAN, 2012). Além disso, os probióticos adicionados ao queijo produzem amplo espectro de enzimas capazes de afetar o perfil bioquímico de proteínas, lipídios e frações de carboidratos em alimentos, como queijos, por meio da proteólise, lipólise e glicólise, influenciando no desenvolvimento da textura, sabor e aroma (ALBENZIO *et al.*, 2013). Para isso, as cepas devem permanecer viáveis e estáveis durante o processamento desses alimentos e ao longo de sua vida útil para que continuem a contribuir para os atributos sensoriais do produto final (DOS SANTOS *et al.*, 2015). Tais contribuições devem ser levadas em consideração no desenvolvimento de novos alimentos probióticos, uma vez que a qualidade sensorial impacta diretamente em sua aceitação pelos consumidores (AINSLEY REID *et al.*, 2007; COMAN *et al.*, 2012).

A análise sensorial apresenta métodos e objetivos normatizados pela Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT (1993), que a define como a disciplina científica usada para evocar, medir, analisar e interpretar reações das características dos alimentos e materiais como são percebidos pelos sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição.

A satisfação do consumidor é um dos principais alvos, quando se refere à qualidade de alimentos, pois é quem dita a comercialização e lucros da empresa promotora. O próprio consumidor determina os parâmetros que serão aplicados na resolução qualitativa do alimento, o que exprime em novas estratégias de marketing, garantindo, assim, a competitividade do produto e reforçando a importância da análise sensorial, que abre mão de diversas metodologias que investigam de forma detalhada as principais respostas dos provadores (MINIM, 2006).

De forma natural, como toda análise, são necessários rigor e parâmetros quando existe o objetivo de conhecer, estudar e avaliar determinado produto. Provadores com sensibilidade e capacidade para distinguir e reproduzir sensações são meios imprescindíveis, na análise sensorial, apresentando grande importância para a autenticidade dos resultados (ORVALHO, 2010).

Vários são os métodos para avaliação sensorial, desenvolvidos, a partir de abordagens diversas, que vão desde testes discriminativos em que as diferenças existentes entre duas ou mais amostras são avaliadas com pontualidade; afetivos, em que o consumidor, de forma geral, é ferramenta singular para a aquisição de respostas em relação à sua preferência por cada

amostra e os testes descritivos, que em conjunto descrevem e quantificam as peculiaridades sensoriais das amostras apresentadas ao consumidor (DRAKE, 2007).

Os métodos sensoriais descritivos permitem a detecção, a descrição e a quantificação dos atributos sensoriais presentes em um alimento. Estes métodos são utilizados pela indústria de alimentos no desenvolvimento de novos produtos, no controle de qualidade, nas alterações de ingredientes e/ou formulações e na avaliação de produtos durante a estocagem. Porém, a maioria das técnicas descritivas existentes necessita da utilização de avaliadores treinados e emprega uma escala não estruturada para avaliar os produtos. Isto torna as análises demoradas e com custo elevado, devido às exaustivas sessões de treinamento para que os problemas com o uso das escalas sejam minimizados.

Em resposta às limitações da análise descritiva clássica, várias metodologias vêm sendo estudadas como alternativa à análise descritiva convencional, como a técnica CATA (*Check-All-That-Apply*). Esta metodologia não necessita de treinamento e pode ser realizada por avaliadores treinados ou não treinados. São baseadas: i) em descrições verbais de produtos, permitindo que os avaliadores usem linguagem própria na descrição dos atributos; ii) na semelhança ou diferença entre os produtos (a verbalização destas diferenças ocorre apenas em uma segunda etapa ou tais diferenças podem mesmo ser omitidas), e iii) na comparação dos produtos individualmente ou com um conjunto de referências (VALENTIN *et al.*, 2012).

2.5.2 Análise de CATA e teste de aceitação

A metodologia (CATA) *Check-All-That-Apply* é a técnica que mais vem sendo utilizada para coletar informações sobre a percepção dos consumidores sobre as características sensoriais dos produtos. O formato das questões CATA permite aos consumidores escolher todos os atributos possíveis para descrever o produto, a partir de uma lista apresentada. De acordo com Dooley *et al.* (2010), os termos desta lista podem ser gerados por um painel de avaliadores treinados ou por um grupo de consumidores, ao testar o produto (por exemplo, em um grupo focal). Além disso, os descritores não são limitados aos atributos sensoriais do produto, mas também podem estar relacionados ao uso do produto ou ao conceito em que se encaixam. Como as respostas CATA estão diretamente ligadas à percepção dos consumidores das características do produto, essas respostas podem ser utilizadas como dados suplementares, para maximizar a aceitação dos produtos. Ares *et al.* (2014) investigaram a reprodutibilidade do questionário CATA na caracterização sensorial de diferentes produtos, através da introdução de uma segunda sessão de avaliação. Em todos os estudos, os mesmos consumidores avaliaram o

mesmo conjunto de amostras sob condições idênticas, nas duas sessões. O estudo revelou que a técnica mostrou-se, de uma forma altamente reprodutível, bastante capaz de detectar diferenças e caracterizar os diferentes produtos, confirmando pesquisas anteriores (BRUZZONE; ARES; GIMÉNEZ, 2011; JAEGER *et al.*, 2013; LADO *et al.*, 2010).

A metodologia CATA é descrita como eficiente para descrever e discriminar os produtos, sendo suas principais vantagens a simplicidade, e a rapidez com que as análises são efetuadas. Estudos que comparam sua eficiência em relação ao uso de avaliadores treinados relatam altas correlações detectadas entre as avaliações, evidenciando que os consumidores são capazes de avaliar os atributos sensoriais de uma forma semelhante (ARES *et al.*, 2010; BRUZZONE; ARES; GIMÉNEZ, 2011). Sua principal limitação, segundo Dooley *et al.* (2010), reside no fato de não serem medidas as intensidades dos atributos apresentados na lista. Por causa disso, em comparação com outras técnicas, pode apresentar menor poder de discriminação (ANTÚNEZ *et al.*, 2017), principalmente quando as amostras possuem diferenças sutis nas intensidades dos atributos.

A discriminação entre as amostras é verificada através da aplicação do teste estatístico Q de Cochran, amplamente utilizado nos dados de frequência dos atributos da lista CATA, para inferência das diferenças dos produtos por atributo (CASTURA *et al.*, 2014). Além disso, a técnica requer um grande número de consumidores. Embora não haja investigação suficiente que indique um número adequado de participantes, um estudo com relevância estatística deve provavelmente considerar o uso de 100 consumidores ou mais.

Outro fato que deve ser observado é a escolha e o número dos termos que irão fazer parte do questionário CATA. Hughson e Boakes (2002) mostraram que o fornecimento de uma lista curta, em vez de uma lista maior, para descrever um conjunto de vinhos, levou a descrições mais eficientes. A fase final do teste CATA consistiu em avaliar a aceitação da impressão geral através de uma escala hedônica não estruturada de 9 cm onde a extremidade da esquerda foi denominada com o termo "não gostei muito", na direita com "gostei muito" e no centro correspondeu a "indiferente" à amostra (STONE; SIDEL, 1985).

As notas das amostras foram obtidas medindo-se, com o auxílio de uma régua, as marcações feitas pelos avaliadores considerando a esquerda 0 cm e a direita 9 cm.

Para comprovar se havia diferença entre as amostras, avalia-se os resultados do atributo sensorial (impressão global) obtidos no teste de aceitação por meio da análise de variância (ANOVA) ao nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$), seguido pelo teste de Tukey para comparação de médias (SOUZA *et al.*, 2013).

3 CONSIDERAÇÕES GERAIS

A técnica de *spray drying* é considerada uma opção eficiente e muito versátil, pois envolve várias áreas de conhecimento, como a indústria farmacêutica, cosmética e alimentícia. Na indústria de alimentos é muito utilizada para proteger materiais bioativos sensíveis ao oxigênio, pH extremo, luz, enzimas e altas temperaturas de armazenamento. Essa proteção se deve a combinação das propriedades presentes nos materiais de parede, garantindo desta forma a eficiência de processo de microencapsulação.

A proteína isolada de soro e a inulina são polímeros comumente utilizados como materiais de parede em processos de microencapsulação por *spray drying*, oferecendo propriedades fundamentais na conservação e manutenção de microrganismos probióticos microencapsulados durante o armazenamento e sua posterior aplicação. O uso desses materiais microencapsulados aplicados na elaboração de novos produtos alimentícios funcionais vêm crescendo nos últimos anos, sendo visto como um mercado em ascensão, tendo em vista a preocupação do consumidor em adquirir alimentos que possam trazer benefícios a saúde sem comprometer as características sensoriais peculiares do alimento original.

Dentro deste contexto, existe uma infinidade de aplicações dessas micropartículas bioativas na elaboração de alimentos funcionais, bem como no melhoramento das suas propriedades organolépticas. O queijo é um alimento que oferece excelentes condições para microrganismos probióticos e capaz de melhorar a viabilidade das células probióticas microencapsuladas durante o processo de maturação do queijo.

REFERÊNCIAS

- AINSLEY REID, A. *et al.* Survival in food systems of *Lactobacillus rhamnosus* R011 microentrapped in whey protein gel particles. **Journal of Food Science**, [Malden], v. 72, n. 1, p. 31–37, Jan. 2007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17995889/>. Acesso em: 11 jun. 2020.
- ALBENZIO, M. *et al.* Physicochemical properties of Scamorza ewe milk cheese manufactured with different probiotic cultures. **Journal of Dairy Science**, [Champaign], v. 96, n. 5, p. 2781–2791, May 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23522678/>. Acesso em: 14 jun. 2020.
- AMIRI, S. *et al.* Exopolysaccharides production by *Lactobacillus acidophilus* LA5 and *Bifidobacterium animalis* subsp. lactis BB12: Optimization of fermentation variables and characterization of structure and bioactivities. **International Journal of Biological Macromolecules**, [Amsterdam], v. 123, p. 752–765, Feb. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141813018340984>. Acesso em: 15 jun. 2020.
- ANAL, A. K.; SINGH, H. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. **Trends in Food Science & Technology**, [London], v. 18, n. 5, p. 240–251, May 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224407000350>. Acesso em: 3 ago. 2020.
- ANANDHARAMAKRISHNAN, C.; ISHWARYA, S. P. **Spray drying techniques for food ingredient encapsulation**. 1st ed. Pondicherry: John Wiley & Sons.
- ANEKELLA, K.; ORSAT, V. Optimization of microencapsulation of probiotics in raspberry juice by spray drying. **LWT - Food Science and Technology**, [Amsterdam], v. 50, n. 1, p. 17–24, Jan. 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643812003313>. Acesso em: 10 ago. 2020.
- ANTÚNEZ, L. *et al.* Comparison of consumer-based methodologies for sensory characterization: Case study with four sample sets of powdered drinks. **Food Quality and Preference**, [Kidlington], v. 56, p. 149–163, Mar. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0950329316302014>. Acesso em: 23 ago. 2020.
- ARES, G. *et al.* Application of a check-all-that-apply question to the development of chocolate milk desserts. **Journal of Sensory Studies**, [Malden], v. 25, n. 1, p. 67–86, July 2010. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1745-459X.2010.00290.x>. Acesso em: 27 ago. 2020.
- ARES, G. *et al.* Further investigations into the reproducibility of check-all-that-apply (CATA) questions for sensory product characterization elicited by consumers. **Food Quality and Preference**, [Kidlington], v. 36, p. 111–121, Sept. 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0950329314000573>. Acesso em: 1 set. 2020.

ARORA, T. *et al.* Effect of *Lactobacillus acidophilus* NCDC 13 supplementation on the progression of obesity in diet-induced obese mice. **British Journal of Nutrition**, [Cambridge], v. 108, n. 8, p. 1382–1389, Oct. 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22289627/>. Acesso em: 10 set. 2020.

BAJAJ, S. R.; MARATHE, S. J.; SINGHAL, R. S. Co-encapsulation of vitamins B12 and D3 using spray drying: Wall material optimization, product characterization, and release kinetics. **Food Chemistry**, [Oxford], v. 335, p. 127642, Jan. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814620315041>. Acesso em: 20 dez. 2020.

BEIRÃO-DA-COSTA, S. *et al.* Inulin potential for encapsulation and controlled delivery of Oregano essential oil. **Food Hydrocolloids**, [Kidlington], v. 33, n. 2, p. 199–206, Dec. 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0268005X1300091X>. Acesso em: 11 jun. 2020.

BERNARD, C. *et al.* Enhancement of emulsifying properties of whey proteins by controlling spray-drying parameters. **Food Hydrocolloids**, [Kidlington], v. 25, n. 4, p. 758–763, June 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0268005X1000192X>. Acesso em: 14 jun. 2020.

BERNUCCI, B. S. P. *et al.* Effect of microencapsulation conditions on the viability and functionality of *Bifidobacterium longum* 5 1A. **LWT - Food Science and Technology**, [Amsterdam], v. 80, p. 341–347, July 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643817301378>. Acesso em: 15 jun. 2020.

BORDALO, L. *et al.* Clinical application of probiotics in type 2 diabetes mellitus: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. **Clinical Nutrition**, [Scotland], v. 36, n. 1, p. 85–92, Feb. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26732026/>. Acesso em: 3 ago. 2020.

BROECKX, G. *et al.* Drying techniques of probiotic bacteria as an important step towards the development of novel pharmabiotics. **International Journal of Pharmaceutics Journal**, [New York], v. 505, n. 1-2, p. 303–318, May 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27050865/>. Acesso em: 3 ago. 2020.

BRUZZONE, F.; ARES, G.; GIMÉNEZ, A. N. A. Consumers' texture perception of milk desserts. Ii – comparison with trained assessors' data. **Journal of Texture Studies**, [Malden], v. 43, n. 3, p. 214–226, Nov. 2011. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1745-4603.2011.00332.x>. Acesso em: 10 ago. 2020.

BURGAIN, J. *et al.* Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. **Journal of Food Engineering**, [Kidlington], v. 104, n. 4, p. 467–483, June 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S026087741000631X>. Acesso em: 23 ago. 2020.

- BUSTOS-GARZA, C.; YÁÑEZ-FERNÁNDEZ, J.; BARRAGÁN-HUERTA, B. E. Thermal and pH stability of spray-dried encapsulated astaxanthin oleoresin from *Haematococcus pluvialis* using several encapsulation wall materials. **Food Research International**, [Amsterdam], v. 54, n. 1, p. 641–649, Nov. 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996913004274>. Acesso em: 27 ago. 2020.
- CAMARGO, L. R. *et al.* Effect of whey protein addition on the nutritional, technological and sensory quality of banana cake. **International Journal of Food Science and Technology**, [Malden], v. 53, n. 11, p. 2617–2623, June 2018. Disponível em: <https://ifst.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/ijfs.13857>. Acesso em: 1 set. 2020.
- CHAN, S. Y. *et al.* Pectin as a rheology modifier: Origin, structure, commercial production and rheology. **Carbohydrate Polymers**, [Oxford], v. 161, p. 118–139, Apr. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0144861716314096>. Acesso em: 10 set. 2020.
- CHEN, X. D. Heat-Mass transfer and structure formation during drying of single food droplets. **Drying Technology: An International Journal**, [Philadelphia], v. 22, n. 1-2, p. 37–41, Oct. 2010. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1081/DRT-120028226>. Acesso em: 20 dez. 2020.
- COMAN, M. M. *et al.* Functional foods as carriers for SYN BIO®, a probiotic bacteria combination. **International Journal of Food Microbiology**, [Amsterdam], v. 157, n. 3, p. 346–352, July 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22727086/>. Acesso em: 11 jun. 2020.
- COOK, M. T. *et al.* Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery. **Journal of Controlled Release**, [Amsterdam], v. 162, n. 1, p. 56–67, Aug. 2012a. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22698940/>. Acesso em: 14 jun. 2020.
- CRUZ, A. G. *et al.* Probiotic cheese: health benefits, technological and stability aspects. **Trends in Food Science & Technology**, [London], v. 20, n. 8, p. 344–354, Aug. 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224409001770>. Acesso em: 15 jun. 2020.
- DENG, J. *et al.* Using glycidyl methacrylate as cross-linking agent to prepare thermosensitive hydrogels by a novel one-step method. **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, [Hoboken], v. 46, n. 6, p. 2193–2201, Feb. 2008. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/pola.22554>. Acesso em: 3 ago. 2020.
- DÍAZ-VERGARA, L. *et al.* Encapsulated whey – native yeast *Kluyveromyces marxianus* as feed additive for animal production. **Food Additives Contaminants: Part A**, [New York], v. 34, n. 5, p. 750-759, May 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28277172/>. Acesso em: 10 ago. 2020.

- DIMA, C. *et al.* The kinetics of the swelling process and the release mechanisms of *Coriandrum sativum* L. essential oil from chitosan/alginate/inulin microcapsules. **Food Chemistry**, [Oxford], v. 195, p. 39–48, Mar. 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814615007785>. Acesso em: 23 ago. 2020.
- DOOLEY, L.; LEE, Y.; MEULLENET, J. The application of check-all-that-apply (CATA) consumer profiling to preference mapping of vanilla ice cream and its comparison to classical external preference mapping. **Food Quality and Preference**, [Kidlington], v. 21, n. 4, p. 394–401, June 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0950329309001554>. Acesso em: 27 ago. 2020.
- DOS SANTOS, K. M. O. *et al.* Artisanal Coalho cheeses as source of beneficial *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus rhamnosus* strains. **Dairy Science and Technology**, [New York], v. 95, n. 2, p. 209–230, Dec. 2015. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13594-014-0201-6>. Acesso em: 1 set. 2020.
- ECKERT, C. *et al.* Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 through spray drying and using dairy whey as wall materials. **LWT - Food Science and Technology**, [Amsterdam], v. 82, p. 176–183, Sept. 2017b. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643817302712>. Acesso em: 10 set. 2020.
- EZHILARASI, P. N. *et al.* Freeze drying technique for microencapsulation of Garcinia fruit extract and its effect on bread quality. **Journal of Food Engineering**, [Kidlington], v. 117, n. 4, p. 513–520, Aug. 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0260877413000228>. Acesso em: 20 dez. 2020.
- FANG, Z.; BHANDARI, B. Effect of spray drying and storage on the stability of bayberry polyphenols. **Food Chemistry**, [Oxford], v. 129, n. 3, p. 1139–1147, Dec. 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814611007965>. Acesso em: 11 jun. 2020.
- FEROLLA, S. M. *et al.* Probiotics as a complementary therapeutic approach in nonalcoholic fatty liver disease. **World Journal of Hepatology**, [New York], v. 7, n. 3, p. 559–565, Mar. 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4381178/>. Acesso em: 14 jun. 2020.
- FU, N.; WOO, M. W.; CHEN, X. D. Single droplet drying technique to study drying kinetics measurement and particle functionality: a review. **Drying Technology: An International Journal**, [Philadelphia], v. 30, n. 15, p. 1771–1785, Nov. 2012. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/07373937.2012.708002>. Acesso em: 15 jun. 2020.
- FUJIYA, M.; UENO, N.; KOHGO, Y. Probiotic treatments for induction and maintenance of remission in inflammatory bowel diseases: a meta-analysis of randomized controlled trials. **Journal of Clinical Gastroenterology**, [Philadelphia], v. 7, n. 1, p. 1–13, Feb. 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26183502/>. Acesso em: 3 ago. 2020.

- GHARSALLAOUI, A. *et al.* Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, [Amsterdam], v. 40, n. 9, p. 1107–1121, Nov. 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996907001238>. Acesso em: 10 ago. 2020.
- GIRALDO, J. *et al.* Antimicrobial activity in cheese whey as an indicator of antibiotic drug transfer from goat milk. **International Dairy Journal**, [Kidlington], v. 69, p. 40–44, June 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0958694617300377>. Acesso em: 23 ago. 2020.
- GUEDES, S. *et al.* Protective effects of β -glucan extracted from spent brewer yeast during freeze-drying, storage and exposure to simulated gastrointestinal conditions of probiotic lactobacilli. **LWT - Food Science and Technology**, [Amsterdam], v. 116, Aug. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643819308382>. Acesso em: 27 ago. 2020.
- HALLER, D. *et al.* Metabolic and functional properties of lactic acid bacteria in the gastrointestinal ecosystem: a comparative in vitro study. **Systematic & Applied Microbiology**, [New York], v. 24, n. 2, p. 218–226, July 2001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11518324/>. Acesso em: 1 set. 2020.
- HUANG, S. *et al.* Spray drying of probiotics and other food-grade bacteria: A review. **Trends in Food Science and Technology**, [London], v. 63, p. 1–17, May 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224416303247>. Acesso em: 10 set. 2020.
- HUGHSON, A. L.; BOAKES, R. A. The knowing nose: The role of knowledge in wine expertise. **Food Quality and Preference**, [Kidlington], v. 13, n. 7–8, p. 463–472, Oct./Dec. 2002. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0950329302000514>. Acesso em: 20 dez. 2020.
- HYMES, J. P. *et al.* Functional analysis of an S-Layer-Associated Fibronectin-Binding protein in *Lactobacillus acidophilus* NCFM. **Applied and Environmental Microbiology**, [Washington], v. 82, n. 9, p. 2676–2685, Feb. 2016. Disponível em: <https://aem.asm.org/content/82/9/2676>. Acesso em: 11 jun. 2020.
- JAEGER, S. R. *et al.* Check-all-that-apply (CATA) responses elicited by consumers: Within-assessor reproducibility and stability of sensory product characterizations. **Food Quality and Preference**, [Kidlington], v. 30, n. 1, p. 56–67, Oct. 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0950329313000578>. Acesso em: 14 jun. 2020.
- JOHN, G. K.; MULLIN, G. E. The gut microbiome and obesity. **Current Oncology Reports**, [United States], v. 18, n. 7, p. 45, July 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27255389/>. Acesso em: 15 jun. 2020.

- JOHNSON, B. *et al.* Identification of extracellular surface-layer associated proteins in *Lactobacillus acidophilus* NCFM. **Microbiology**, [New York], v. 159, n. 11, p. 2269–2282, Nov. 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24002751/>. Acesso em: 3 ago. 2020.
- JONASSEN, H. *et al.* Preparation of ionically cross-linked pectin nanoparticles in the presence of chlorides of divalent and monovalent cations. **Biomacromolecules**, [Washington], v. 14, n. 10, p. 3523–3531, Oct. 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24004278/>. Acesso em: 10 ago. 2020.
- KANDYLIS, P. *et al.* Dairy and non-dairy probiotic beverages. **Current Opinion in Food Science**, [Netherlands], v. 7, p. 58–63, Feb. 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2214799315001411>. Acesso em: 23 ago. 2020.
- KAREB, O.; AÏDER, M. Whey and its derivatives for probiotics, prebiotics, synbiotics, and functional foods: a critical review. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, [United States], v. 11, n. 2, p. 348-369, June 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29732479/>. Acesso em: 27 ago. 2020.
- KARIMI, R.; SOHRABVANDI, S.; MORTAZAVIAN, A. M. Review article: Sensory characteristics of probiotic cheese. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, [Malden], v. 11, n. 5, p. 437–452, Sept. 2012. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1541-4337.2012.00194.x>. Acesso em: 1 set. 2020.
- KATOUIZIAN, I.; JAFARI, S. M. Nano-encapsulation as a promising approach for targeted delivery and controlled release of vitamins. **Trends in Food Science and Technology**, [London], v. 53, p. 34–48, July 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224416300012>. Acesso em: 10 set. 2020.
- KORBELIK, M.; COOPER, P. D. Potentiation of photodynamic therapy of cancer by complement: the effect of gamma - inulin. **British Journal of Cancer**, [London], v. 96, p. 67–72, Dec. 2007. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/6603508>. Acesso em: 20 dez. 2020.
- LADO, J. *et al.* Application of a check-all-that-apply question for the evaluation of strawberry cultivars from a breeding program. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [Chichester], v. 90, n. 13, p. 2268–2275, Oct. 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20648524/>. Acesso em: 11 jun. 2020.
- LESLIE, M. Microbes aid cancer drugs. **Science**, [Washington], v. 350, n. 6261, p. 614–615, Nov. 2015. Disponível em: <https://science.sciencemag.org/content/350/6261/614>. Acesso em: 14 jun. 2020.
- LINARES, D. M. *et al.* Lactic acid bacteria and bifidobacteria with potential to design natural biofunctional health-promoting dairy foods. **Frontiers in Microbiology**, [Switzerland], v. 8, p. 1–11, May 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28572792/>. Acesso em: 15 jun. 2020.

- MANINI, F. *et al.* Characterization of lactic acid bacteria isolated from wheat bran sourdough. **LWT - Food Science and Technology**, [Amsterdam], v. 66, p. 275–283, Mar. 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643815302632>. Acesso em: 3 ago. 2020.
- MARTIN, M. J. *et al.* Microencapsulation of bacteria: A review of different technologies and their impact on the probiotic effects. **Innovative Food Science and Emerging Technologies Journal**, [New York], v. 27, p. 15–25, Feb. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S146685641400160X>. Acesso em: 10 ago. 2020.
- MATAR, B. C. *et al.* Immunomodulating effects of milks fermented by *Lactobacillus helveticus* and its non-proteolytic variant. **The Journal of Dairy Research**, [New York], v. 68, n. 4, p. 601–609, Nov. 2001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11928956/>. Acesso em: 23 ago. 2020.
- MEIRA, Q. G. S. *et al.* Effects of added *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* probiotics on the quality characteristics of goat ricotta and their survival under simulated gastrointestinal conditions. **Food Research International**, [Amsterdam], v. 76, p. 828–838, Oct. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096399691530137X>. Acesso em: 27 ago. 2020.
- MENDANHA, D. V. *et al.* Microencapsulation of casein hydrolysate by complex coacervation with SPI/pectin. **Food Research International**, [Amsterdam], v. 42, n. 8, p. 1099–1104, Oct. 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996909001628>. Acesso em: 1 set. 2020.
- NAZZARO, F. *et al.* Fermentative ability of alginate-prebiotic encapsulated *Lactobacillus acidophilus* and survival under simulated gastrointestinal conditions. **Journal of Functional Foods**, [Netherlands], v. 1, n. 3, p. 319–323, July 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1756464609000152>. Acesso em: 10 set. 2020.
- NUNES, G. L. *et al.* Inulin, hi-maize, and trehalose as thermal protectants for increasing viability of *Lactobacillus acidophilus* encapsulated by spray drying. **LWT - Food Science and Technology**, [Amsterdam], v. 89, p. 128–133, Mar. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643817307703>. Acesso em: 20 dez. 2020.
- OAK, S. J.; JHA, R. The effects of probiotics in lactose intolerance: A systematic review. **Food Science and Nutrition**, [Philadelphia], v. 59, n. 11, p. 1675–1683, Feb. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29425071/>. Acesso em: 11 jun. 2020.
- O'BRIEN, C. M. *et al.* Evaluation of the effects of fat replacers on the quality of wheat bread. **Journal of Food Engineering**, [Kidlington], v. 56, n. 2-3, p. 265–267, Feb. 2003. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0260877402002662>. Acesso em: 14 jun. 2020.

OUWEHAND, A. C. *et al.* *Lactobacillus acidophilus* supplementation in human subjects and their resistance to enterotoxigenic *Escherichia coli* infection. **British Journal of Nutrition**, [Cambridge], v. 111, n. 3, p. 465–473, Feb. 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23930950/>. Acesso em: 15 jun. 2020.

OZOGUL, F.; YAZGAN, H.; OZOGUL, Y. **Lactic acid bacteria: *Lactobacillus* spp.: *Lactobacillus acidophilus***. Oxford: Elsevier Science, 2011.

PATEL, R. P., PATEL, M. P., SUTHAR, A. M. Spray drying technology: an overview. **Indian Journal of Science and Technology**, [India], v. 2, n. 10, p. 44–47, Jan. 2009. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/279627794_Spray_drying_technology_An_overview. Acesso em: 3 ago. 2020.

PATEL, S. Emerging trends in nutraceutical applications of whey protein and its derivatives. **Journal of Food Science and Technology**, [New Delhi], v. 52, n. 11, p. 6847–6858, Nov. 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26884639/>. Acesso em: 10 ago. 2020.

PÉREZ-MASIÁ, R. *et al.* Encapsulation of folic acid in food hydrocolloids through nanospray drying and electrospraying for nutraceutical applications. **Food Chemistry**, [Oxford], v. 168, p. 124–133, Feb. 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25172691/>. Acesso em: 23 ago. 2020.

PINTO, S. S. *et al.* Potential use of whey concentrate and prebiotics as carrier agents to protect Bifidobacterium-BB-12 microencapsulated by spray drying. **Food Research International**, [Amsterdam], v. 67, p. 400–408, Jan. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996914007522>. Acesso em: 27 ago. 2020.

RANADHEERA, R. D. C. S.; BAINES, S. K.; ADAMS, M. C. Importance of food in probiotic efficacy. **Food Research International**, [Amsterdam], v. 43, n. 1, p. 1–7, Jan. 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996909002749>. Acesso em: 1 set. 2020.

RINCÓN, A. A. *et al.* Effect of the inclusion of banana silage in the diet of goats on physicochemical and sensory characteristics of cheeses at different ripening times. **Small Ruminant Research**, [Amsterdam], v. 149, p. 52–61, Apr. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0921448816303947>. Acesso em: 10 set. 2020.

RO, J. *et al.* Pectin micro- and nano-capsules of retinyl palmitate as cosmeceutical carriers for stabilized skin transport. **Korean Journal of Physiology & Pharmacology**, [Seoul], v. 19, n. 1, p. 59–65, Jan. 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25605998/>. Acesso em: 20 dez. 2020.

ROBERFROID, M. B. Chicory fructooligosaccharides and the gastrointestinal tract. **Nutrition**, [New York], v. 16, n. 7-8, p. 677-679, July/Aug. 2000. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10906595/>. Acesso em: 11 jun. 2020.

ROBERFROID, M. B.; DELZENNE, N. M. Dietary fructans. **Annual Review of Nutrition**, [Palo Alto], v. 18, p. 117–43, Jan. 1998. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9706221/>. Acesso em: 11 jun. 2020.

ROSOLEN, M. D. *et al.* Symbiotic microencapsulation of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* R7 using whey and inulin by spray drying. **LWT - Food Science and Technology**, [Amsterdam], v. 115, Nov. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643819307534>. Acesso em: 14 jun. 2020.

ROUHI, M.; SOHRABVANDI, S.; MORTAZAVIAN, A. Probiotic fermented sausage: viability of probiotic microorganisms and sensory characteristics. **Journal Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [New York], v. 53, n. 4, p. 331–348, Jan. 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23320906/>. Acesso em: 15 jun. 2020.

ROUND, J. L.; MAZMANIAN, S. K. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. **Nature Reviews Immunology**, [London], v. 9, p. 313–323, May 2009. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nri2515>. Acesso em: 3 ago. 2020.

RUIZ, P. *et al.* Functional properties and safety assessment of lactic acid bacteria isolated from goat colostrum for application in food fermentations. **International Journal of Dairy Technology**, [Malden], v. 69, n. 4, p. 559–568, May 2016. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1471-0307.12293>. Acesso em: 10 ago. 2020.

SAÉNZ, C. *et al.* Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). **Food Chemistry**, [Oxford], v. 114, n. 2, p. 616–622, May 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814608011904>. Acesso em: 23 ago. 2020.

SANSONE, F. *et al.* Maltodextrin/pectin microparticles by spray drying as carrier for nutraceutical extracts. **Journal of Food Engineering**, [Kidlington], v. 105, n. 3, p. 468–476, Aug. 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0260877411001294>. Acesso em: 27 ago. 2020.

SCHUCK, P. *et al.* Recent advances in spray drying relevant to the dairy industry: A comprehensive critical review. **Drying Technology**, [Philadelphia], v. 3937, p. 1773–1790, Sept. 2016. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/07373937.2016.1233114?journalCode=ldrt20>. Acesso em: 1 set. 2020.

SCHUTYSER, M. A. I.; PERDANA, J.; BOOM, R. M. Single droplet drying for optimal spray drying of enzymes and probiotics. **Trends in Food Science & Technology**, [London], v. 27, n. 2, p. 73–82, Oct. 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224412001100>. Acesso em: 10 set. 2020.

SHAHIDI, F.; HAN, X-Q. Encapsulation of food ingredients. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [Philadelphia], v. 33, n. 6, p. 501-547, Sept. 2009. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408399309527645>. Acesso em: 20 dez. 2020.

SHORI, A. B. Microencapsulation improved probiotics survival during gastric transit. **Journal of Biosciences**, [Bangalore], v. 24, n. 1, p. 1–5, Jan. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1978301916300171>. Acesso em: 11 jun. 2020.

SOHAIL, A. *et al.* The viability of *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Lactobacillus acidophilus* NCFM following double encapsulation in alginate and maltodextrin. **Food and Bioprocess Technology**, [New York], v. 6, n. 10, p. 2763–2769, July 2013. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11947-012-0938-y>. Acesso em: 14 jun. 2020.

SOUZA, V. R. DE *et al.* Analysis of various sweeteners in low-sugar mixed fruit jam: equivalent sweetness, time-intensity analysis and acceptance test. **International Journal of Food Science and Technology**, [Malden], v. 48, n. 7, p. 1541–1548, Mar. 2013. Disponível em: <https://ifst.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/ijfs.12123>. Acesso em: 15 jun. 2020.

SULLIVAN, J. J. O. *et al.* Atomisation technologies used in spray drying in the dairy industry: A review. **Journal of Food Engineering**, [Kidlington], v. 243, p. 57–69, Feb. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0260877418303649>. Acesso em: 3 ago. 2020.

TAGUCHI, Y. *et al.* Preparation of thermosensitive microcapsules containing water soluble powder by melting dispersion cooling method. **Journal of Encapsulation and Adsorption Sciences**, [New York], v. 6, n. 3, p. 57–69, Sept. 2016. Disponível em: <https://www.scirp.org/journal/PaperInformation.aspx?PaperID=69942>. Acesso em: 10 ago. 2020.

TAMANG, J. P. *et al.* Functional properties of lactic acid bacteria isolated from ethnic fermented vegetables of the Himalayas. **International Journal of Food Microbiology**, [Amsterdam], v. 135, n. 1, p. 28–33, Sept. 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168160509003638>. Acesso em: 23 ago. 2020.

TEIXEIRA, L.; FONSECA, L. Perfil físico-químico do soro de queijos mozzarella e minas-padrão produzidos em várias regiões do estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [Belo Horizonte], v. 60, n. 1, p. 243–250, dez. 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/abmvz/v60n1/a33v60n1.pdf>. Acesso em: 27 ago. 2020.

TURKMEN, N.; AKAL, C.; ÖZER, B. Probiotic dairy-based beverages: A review. **Journal of Functional Foods**, v. 53, p. 62–75, Feb. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1756464618306339>. Acesso em: 1 set. 2020.

VALENTIN, D. *et al.* Quick and dirty but still pretty good: A review of new descriptive methods in food science. **International Journal of Food Science and Technology**, [Malden], v. 47, n. 8, p. 1563–1578, May 2012. Disponível em: <https://ifst.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2621.2012.03022.x>. Acesso em: 10 set. 2020.

WADA, T. A. W. *et al.* Physicochemical characterization and biological effects of inulin enzymatically synthesized from sucrose. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [Washington], v. 53, n. 4, p. 1246–1253, Feb. 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15713048/>. Acesso em: 20 dez. 2020.

WICKER, L. *et al.* Pectin as a bioactive polysaccharide e extracting tailored function from less. **Food Hydrocolloids**, [Kidlington], v. 42, n. 2, p. 251–259, Dec. 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0268005X1400006X>. Acesso em: 11 jun. 2020.

YEUNG, T. W. *et al.* Microencapsulation of probiotics in hydrogel particles: enhancing *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* LM0230 viability using calcium alginate beads. **Food and Function**, [New York], v. 7, n. 4, p. 1797–1804, Apr. 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26611443/>. Acesso em: 14 jun. 2020.

YONEKURA, L. *et al.* Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* NCIMB 701748 in matrices containing soluble fibre by spray drying: Technological characterization, storage stability and survival after in vitro digestion. **Journal of Functional Foods**, [Netherlands], v. 6, n. 1, p. 205–214, Jan. 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464613002363>. Acesso em: 15 jun. 2020.

ZIMERI, J. E.; KOKINI, J. L. The effect of moisture content on the crystallinity and glass transition temperature of inulin. **Carbohydrate Polymers**, v. 48, n. 3, p. 1998–2003, May 2002. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0144861701002600>. Acesso em: 3 ago. 2020.

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

**ARTIGO 1 - ATIVIDADE SIMBIÓTICA: ENCAPSULAÇÃO POR *SPRAY DRYING*
DE *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS* LA14 COM ISOLADO PROTEICO DE
SORO/INULINA**

**SYMBIOTIC ACTIVITY: SPRAY DRYING ENCAPSULATION OF
LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS LA14 WITH WHEY/INULIN PROTEIN ISOLATE**

Normas da Revista Científica: Food Research International
ISSN: 0963-9969
(Versão preliminar)

1 **Resumo**

2 O objetivo do trabalho foi avaliar as características físicas, morfológicas, viabilidade
3 probiótica e resistência às condições gastrointestinais simuladas das micropartículas contendo
4 *Lactobacillus acidophilus* LA14. As micropartículas foram produzidas com isolado proteico de
5 soro (IPS) e inulina (IN). Foram avaliados 4 tratamentos em delineamento totalmente
6 casualizado contendo diferentes concentrações de IPS e IN, além da adição de pectina fixada a
7 2%, com duas repetições. A inulina atuou como espessante aumentando a viscosidade da
8 emulsão ($1.2053 \leq k \leq 2.0565$). Os melhores tempos de reconstituição foram obtidos nos
9 tratamentos com maior concentração de inulina. A solubilidade dos pós foi diminuída nos
10 tratamentos contendo inulina. Os produtos obtidos caracterizam-se por baixa umidade e
11 atividade de água. A eficiência de encapsulação foi influenciada pela substituição parcial do
12 IPS por IN, onde o melhor resultado (96,12%) foi encontrado no tratamento com maior
13 quantidade de inulina, IPS/IN (1:2). O tamanho de partícula aumentou em maiores
14 concentrações de inulina: d_{32} (6,98 a 12,79 μm) e d_{43} (9,03 a 14,89 μm). As análises de raio-x
15 mostraram materiais com estruturas semelhantes, mas com formação de pequenas zonas
16 cristalinas nos tratamentos com maior quantidade de inulina. A combinação IPS/IN (1:2), foi
17 eficiente para proteger o microrganismo durante o processo de secagem, sem afetar a
18 viabilidade da célula microencapsulada, apresentando potencial para uso em aplicação e
19 elaboração de alimentos funcionais probióticos.

20 **Palavras-chave:** Secagem, Probióticos, Viabilidade celular, Reologia, Resistência,
21 Gastrointestinal.

Abstract

This work aimed to evaluate the physical, morphological, probiotic viability and resistance to simulated gastrointestinal conditions of microparticles containing *Lactobacillus acidophilus* LA14. The microparticles were produced with whey protein isolate (WPI) and inulin (IN). Four treatments were evaluated in a completely randomized design containing different concentrations of WPI and IN, besides the addition of pectin fixed at 2%, with two replications. The inulin acted as a thickener, increasing the viscosity of the emulsion ($1.2053 \leq k \leq 2.0565$). The best reconstitution times were obtained in treatments with the highest concentration of inulin. The solubility of the powders decreased in treatments containing inulin. The products obtained are characterized by low humidity and water activity. The encapsulation efficiency was influenced by the partial replacement of the WPI by IN, which the best result (96.12%) was found in the treatment with the highest amount of inulin, WPI/IN (1:2). The particle size increased in higher inulin concentrations: d_{32} (6.98 to 12.79 μm) and d_{43} (9.03 to 14.89 μm). The X-ray analysis revealed materials with similar structures, however with the formation of small crystalline zones in treatments with a greater amount of inulin. The combination WPI/IN (1:2), was efficient to protect the microorganism during the drying process, without affecting the viability of the microencapsulated cell, presenting potential for using in application and preparation of probiotic processed foods.

Keywords: Drying, Probiotics, Cell viability, Rheology, Resistance, Gastrointestinal.

41 1. Introdução

42

43 O interesse do consumidor por alimentos funcionais aumentou nos últimos anos, devido
44 à presença de compostos biologicamente ativos que fornecem benefícios à saúde, seja no
45 tratamento ou prevenção de doenças (Vivek et al., 2020). Dentre eles, estão os alimentos
46 contendo culturas probióticas, consideradas suplementos microbianos que agregam valor
47 nutritivo e terapêutico aos alimentos (Arepally & Goswami, 2019). Os microrganismos de
48 maior importância são as bactérias do ácido lático (Linares et al., 2017). As espécies
49 pertencentes ao gênero *Lactobacillus* são os probióticos mais estudados para incorporação em
50 alimentos e têm sido amplamente utilizados como ingredientes ativos em produtos lácteos
51 funcionais (Meira et al., 2015; Amiri et al., 2019).

52 Recomenda-se que os alimentos contendo bactérias probióticas apresentem contagem
53 de 10^8 a 10^9 unidades formadoras de colônias (UFC)/g antes da ingestão. Visando garantir que
54 10^6 - 10^7 UFC/g cheguem ao intestino, mais precisamente, ao cólon, onde podem proporcionar
55 efeito benéfico sobre distúrbios e infecções intestinais (Nazzaro et al., 2009). No entanto, a
56 maioria dos probióticos não possuem a capacidade de sobreviver em grandes quantidades
57 devido aos baixos valores do pH (igual a 2) no suco gástrico e/ou contato com oxigênio
58 molecular contido nos tecidos das matrizes alimentícias. Dessa maneira, novas técnicas para a
59 incorporação de bactérias probióticas em alimentos estão sendo estudadas.

60 O processo de microencapsulação por *spray drying* é um processo pelo qual ocorre a
61 secagem rápida de uma emulsão que contém misturas de polímeros naturais chamados de
62 matérias de parede. Essas matérias possuem propriedades distintas, onde, ao entrar em contato
63 com o ar quente, forma uma camada fina que irá proteger o material bioativo disperso na
64 emulsão, chamado de material do núcleo.

65 A microencapsulação é uma tecnologia amplamente conhecida por melhorar a
66 estabilidade e a proteção física dos probióticos em matrizes alimentícias, garantindo a sua
67 viabilidade. Além disso, a indústria de alimentos vê a microencapsulação como um método de
68 acrescentar valor aos seus produtos e se destacar no mercado (Silva et al., 2019). O uso de
69 micropartículas na elaboração de sistemas particulados estão se tornando cada vez mais
70 relevantes graças ao seu potencial de aplicação em várias áreas, tais como retenção de nutrientes
71 e liberação controlada, revestimentos, materiais para embalagem e complexos emulsionados.
72 Entre os materiais de parede, o isolado proteico de soro de leite é descrito como um material
73 favorável à encapsulação de probióticos, considerando que é derivado de um subproduto da
74 indústria de laticínios, possui baixo custo e alto valor nutricional (Ilha et al., 2015).

75 Outro material atualmente usado para proteger as bactérias probióticas é a inulina, um
76 oligossacarídeo do tipo frutano, encontrado em uma ampla variedade de plantas, reconhecido
77 como um composto prebiótico. É uma fibra fermentável que não pode ser digerida pelas
78 enzimas do trato gástrico, estimulando seletivamente o crescimento de bactérias benéficas do
79 cólon (Nunes et al., 2018; Pinto et al., 2015). A combinação de prebióticos com probióticos,
80 conhecida como simbiose, mostrou potencial na melhora da proliferação probiótica no intestino
81 e ajuda na modificação da comunidade intestinal (Özer et al., 2005).

82 O comportamento de pegajosidade limita a aplicação de *frutooligossacarídeo* (FOS),
83 principalmente devido à sua baixa temperatura de transição vítrea, a qual aumenta a aderência
84 durante a secagem por pulverização, baixando o rendimento do processo, dentre outras
85 consequências. Este problema pode ser minimizado com a introdução de agentes de alto peso
86 molecular (Adhikari et al., 2009), tais como IPS, e outros carboidratos de alto peso molecular.
87 Além disso, estudos têm demonstrado que a adição de proteína aumenta a viscosidade das
88 soluções ricas em açúcar devido às suas propriedades de superfície e de formação de filmes
89 (Adhikari et al., 2009). As proteínas são os emulsificantes preferidos em muitos sistemas
90 alimentares devido ao seu caráter anfifílico, embora as proteínas por si só possam ser
91 inadequadas para atender a todos os requisitos para proporcionar estabilidade estendida às
92 emulsões (Pereira et al., 2019).

93 Em complemento, a pectina é um polissacarídeo com carga negativa encontrada nas
94 paredes celulares das plantas terrestres (Mohnen, 2008). Tem sido usada no processo de
95 microencapsulação como material de parede devido à sua propriedade de gelificação (Noh et
96 al., 2018), bem como, possui uma estrutura polieletrólítica aniônica linear que oferece grande
97 potencial como estabilizador de emulsões (Aberkane et al., 2014). Diante deste contexto, o
98 objetivo deste trabalho foi avaliar as características físicas, morfológicas, viabilidade probiótica
99 e resistência á condições gastrointestinais simuladas das misturas poliméricas contendo
100 proteína do soro de leite (IPS), inulina (IN), e pectina (P) na microencapsulação de
101 *Lactobacillus acidophilus* LA14 por *spray drying*.

102

103 **2. Material e Métodos**

104

105 *2.1. Materiais*

106

107 Isolado proteico de soro de leite (91% de proteína – IPS 9410, Hilmar Ingredients,
108 Texas, EUA); inulina (grau de polimerização > 13, Orafti®HP, Beneo - Orafti, Tienen,

109 B elgica), e pectina (Newsletter, São Paulo, Brasil) foram usados como materiais de parede. As
 110 enzimas α -amilase suína, lisozima, lipase gástrica, sais biliares, lactase, pancreatina e tripsina
 111 foram adquiridas da Sigma Aldrich (São Paulo, Brasil).

112

113 2.2. Delineamento experimental e análise estatística

114

115 O processo de encapsula o foi avaliado quanto às formula es produzidas utilizando
 116 misturas de materiais de parede em diferentes propor es, sendo a concentra o de pectina de
 117 2% (peso/peso) fixada em todos os tratamentos. O delineamento experimental, realizado em
 118 duplicata,   mostrado na Tabela 1. As respostas foram analisadas por meio de análise de
 119 variância e teste de *Tukey* em nível de 5% de probabilidade.

120

121 Tabela 1

122 Delineamento experimental para as misturas dos biopolímeros de parede.

Formula�es	Isolado proteico de soro (IPS)	Inulina (IN)
IPS	20,00	0,00
IPS/IN (2:1)	13,33	6,67
IPS/IN (1:1)	10,00	10,00
IPS/IN (1:2)	6,67	13,33

123

124 2.3. Microrganismo, manuten o e padroniza o do inculo

125

126 *Lactobacillus acidophilus* LA14 isolado do alimento funcional *Prolive* (Aché
 127 Laboratórios Farmacêuticos S.A, Guarulhos, São Paulo, Brasil) e mantido no laboratório de
 128 Microbiologia de Alimentos do Departamento de Ciência dos Alimentos da UFLA, foi utilizado
 129 neste trabalho. A cepa mantida em estoque congelada foi reativada em caldo RMS
 130 (*Man, Rogosa & Sharpe*) a 37 C/12h, seguido por três repicagens consecutivas em caldo MRS
 131 e incubaq o a 37 C por 16h. Após ativa o, a cultura foi centrifugada a 7100 x g, por 5 min, o
 132 pellet lavado duas vezes com água estéril e ressuspendido em soluço salina (0,85%). A cultura
 133 foi padronizada por curva de crescimento, sendo realizado o acompanhamento da absorv ncia
 134 (D.O. 600nm) da cultura em caldo MRS e plaqueamento em  gar MRS, ambos incubados a
 135 37 C. A suspensão foi padronizada em cerca de 10⁹ UFC/ML.

136 2.4. *Preparo das emulsões de alimentação*

137

138 As soluções de alimentação foram preparadas segundo Fritzen-Freire et al. (2012), com
 139 modificações. Todas as soluções de alimentação foram homogeneizadas em água destilada
 140 estéril e os materiais de parede foram previamente esterilizados em luz UV por 25 min,
 141 sobrepostos em camadas finas de 4 mm. Após a esterilização dos materiais da solução de
 142 alimentação, a biomassa bacteriana (10^9 UFC/mL), previamente centrifugada e resuspensa
 143 em solução salina (0,85%), foi adicionada em um frasco contendo 700 mL em cada solução de
 144 alimentação.

145

146 2.5. *Reologia*

147

148 O comportamento reológico das emulsões contendo as suspensões de bactérias foi
 149 determinado a 20°C em reômetro rotacional de cilindros concêntricos Brookfield (DV III Ultra
 150 model, Brookfield Engineering Laboratories, Stoughton, USA), utilizando o spindle SCA-25.
 151 Para a estabilização da temperatura, um banho termostático Brookfield (EX 200 model,
 152 Brookfield Engineering Laboratories) foi acoplado ao cilindro encamisado. Cada amostra foi
 153 submetida a uma rampa crescente de taxa de deformação (0 a 55 s^{-1}), durante 7 min de ensaio,
 154 sendo tomados 14 pontos. Os modelos Lei de Newton (Eq. 1), Lei da Potência (Eq. 2) e
 155 *Herschel-Bulkley* (Eq. 3) foram ajustados aos dados experimentais (curva de fluxo) por meio
 156 do software Statistical Analysis System (SAS University Edition, Cary, USA, 2016).

157

$$\sigma = \mu\dot{\gamma} \quad (1)$$

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

$$\sigma = \sigma_o + k\dot{\gamma}^n \quad (3)$$

158

159 Em que σ é a tensão de cisalhamento (Pa), $\dot{\gamma}$ é a taxa de deformação (s^{-1}), μ é a
 160 viscosidade Newtoniana (Pa·s), k é o índice de consistência (Pa·sⁿ), n é o índice de
 161 comportamento de fluxo (adimensional), e σ_o é a tensão inicial de escoamento (Pa). Os gráficos
 162 foram plotados a partir do SigmaPlot 11.0 (Systat Software Inc., California, USA, 2008).

163

164 2.6. Microencapsulação por Spray Drying

165

166 *Lactobacillus acidophilus* (10^9 UFC/mL) foi microencapsulado em *spray drying* de
167 escala piloto (MSD 1.0; Labmaq do Brasil, Ribeirão Preto, Brasil), operando em temperatura
168 constante de entrada de ar de 110°C e temperatura de saída entre 63 e 65°C, de acordo com os
169 parâmetros utilizados por Fritzen-Freire et al. (2012) com algumas modificações. As soluções
170 de alimentações foram mantidas sob agitação magnética a temperatura ambiente
171 (aproximadamente 26°C) e alimentadas na câmara principal através de uma bomba peristáltica,
172 com fluxo de alimentação de 0.5 L.h⁻¹ (JAFARI et al., 2008) e fluxo de ar comprimido de 40
173 L.m⁻¹. As micropartículas resultantes foram coletadas na base do ciclone e estocadas em frasco
174 estéril selado e mantidos à 4°C (Castro-Cislaghi et al., 2012).

175

176 2.7. Caracterização das micropartículas

177

178 2.7.1. Propriedades de reconstituição

179

180 A molhabilidade dos pós foi determinada utilizando o método de Fuchs et al. (2006)
181 com algumas modificações. As amostras em pó (0,1 g) foram espalhadas sobre a superfície de
182 um béquer contendo 100 mL de água destilada a 20°C sem agitação. O tempo necessário até
183 que a última partícula de pó afundasse ou se molhasse foi usado para a comparação da extensão
184 de molhabilidade entre as amostras.

185 A solubilidade dos pós em água fria foi avaliada com base no método proposto por
186 Cano-Chauca et al. (2005) com algumas modificações, em que 10 mL de água destilada foram
187 medidos e transferidos para um béquer de 50 mL. Uma amostra do produto microencapsulado
188 (2,0 g) foi pesada e adicionada ao béquer contendo água e sob agitação a baixa velocidade por
189 2 min. O material foi transferido para um tubo de centrifuga de 50 mL e centrifugada à 7100 x
190 g por 5 min. Uma alíquota (5 mL) foi retirada do sobrenadante, transferida para uma placa de
191 petri e seca em estufa a 105°C por 5 h. A solubilidade em água fria foi calculada de acordo com
192 a Eq. (4):

193

$$194 \quad Sol (\%) = \frac{\text{massa de sólido do sobrenadante (g)} \times 2}{\text{massa da amostra (g)}} \times 100 \quad (4)$$

195

196 2.7.2. *Teor de umidade e Atividade de água (aw)*

197

198 O teor de umidade dos pós foi determinado pelo método da Association of Official
199 Analytical Chemists (AOAC, 2007). A porcentagem de perda de peso após a secagem, em
200 estufa a 105°C, até peso constante foi obtida, e o teor de umidade (%) foi calculado. A atividade
201 de água foi determinas usando o equipamento Aqualab (3TE, Decagon Devices, São José dos
202 Campos, SP, Brasil).

203

204 2.7.3. *Eficiência de encapsulação de Lactobacillus acidophilus*

205

206 A bactéria encapsulada foi liberada de acordo com Kim et al. (2008) com algumas
207 modificações. O pó microencapsulado (1 g) foi resuspendido em 9 mL de água peptonada
208 (0.001%) seguido por homogeneização por 5 min em agitador magnético. A contagem de
209 células viáveis foi determinada pelo plaqueamento em profundidade em ágar MRS, com
210 sobrecamada. As placas foram incubadas à 37°C/48h usando gerador de anaerobiose
211 (Anaerobac, Probac, São Paulo, Brasil), e o resultado foi expresso em Log de unidade
212 formadora de colônia por grama (Log UFC/g). A eficiência de encapsulação (EE), que é um
213 critério para medir a influência do procedimento da encapsulação no número de células viáveis,
214 foi calculado segundo a Eq. (5):

215

$$EE = (N/N_0) \times 100 \quad (5)$$

216

217 Em que N é o número de células viáveis nas microcápsulas e N₀ é o número de células
218 viáveis nas soluções de alimentação (Picot & Lacroix, 2004).

219

220 2.7.4. *Morfologia e tamanho de partícula*

221

222 A morfologia da superfície das micropartículas foi analisada por microscopia eletrônica
223 de varredura (MEV). As micropartículas foram fixadas em suporte de alumínio e em seguida,
224 foram submetidas à metalização com ouro até a espessura de 350 Å sob vácuo (Baltec Sputter
225 Coater SDC-030, Balzers, Liechtenstein). As visualizações de amostras em várias ampliações
226 (× 110 – 12.000) foram feitas com um escaneamento microscópio eletrônico (LEO Evo 40,
227 Tokyo, Japan) com aceleração de 15 kV Voltagem.

228

229 O tamanho das partículas foi avaliado por meio das imagens obtidas, de modo a varrer
toda a amostra e obter um resultado representativo. As imagens de microscopia eletrônica foram

230 analisadas segundo metodologia descrita por Frascareli et al. (2012) com algumas
 231 modificações. Assim, foram medidas 100 micropartículas de cada imagem das amostras com o
 232 auxílio do software Zeiss. A partir das determinações, realizou-se o cálculo do diâmetro médio
 233 superficial das gotas d_{32} (diâmetro de Sauter) e o diâmetro médio volumétrico utilizando as Eqs.
 234 (6) e (7), respectivamente. Em que n_i é o número de gotículas de diâmetro d_i .

$$235 \quad d_{32} = \frac{\sum n_i d_i^3}{\sum n_i d_i^2} \quad (6)$$

236

$$237 \quad d_{43} = \frac{\sum n_i d_i^4}{\sum n_i d_i^3} \quad (7)$$

238

239 2.7.5. Difractometria de raio-X

240

241 As micropartículas foram colocadas em um suporte e cobertos com tampa de vidro. As
 242 medidas foram realizadas usando difratômetro de raio-X (XDR-6000, Shimadzu, Kyoto,
 243 Japan), aplicando radiação Cu-K α_1 com um comprimento de onda de 1.54 Å a 30 kV e 30 mA.
 244 As amostras foram analisadas em ângulos de 4 a 40° em 2 h com incremento de 0,02° (1,2°
 245 min⁻¹) (Kawai et al., 2011; Ronkart et al., 2009).

246

247 2.7.6. Viabilidade das células de *Lactobacillus acidophilus* encapsuladas durante estocagem

248

249 A viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* foi monitorada durante 120 dias de
 250 armazenamento das microcápsulas a 7, 15 e 25°C, utilizando estufas tipo (B.O.D, Eletrolab,
 251 São Paulo, Brasil) com controle de temperatura (Kim et al., 2008). Amostras (1 g) foram
 252 coletadas a cada 15 dias e dissolvidas em 9 mL de água peptonada (0,1%), seguido de
 253 homogeneização por 5 min em agitador tipo vortex e plaqueamento em profundidade em meio
 254 MRS ágar com sobrecamada. Para a contagem de células viáveis, a incubação foi feita a
 255 37°C/72h (B.O.D Eletrolab, São Paulo, Brasil) em anaerobiose (Anaerobac, Probac, São Paulo,
 256 Brasil).

257

258 2.7.7. Exposição das micropartículas contendo *Lactobacillus acidophilus* LA 14 às condições 259 gastrointestinais simuladas *in vitro*

260

261 Sucos digestivos artificiais foram elaborados conforme as metodologias adaptadas de
262 Crittenden et al. (2001), para avaliar a resistência das micropartículas probióticas à digestão.
263 Todos os sucos digestivos foram esterilizados a frio através de filtro de 0,2 µm. A saliva foi
264 preparada com 0,33 g/100 mL de α-amilase suína, e 0,25 g/100 mL de lisozima a pH 6,0. O
265 suco gástrico foi preparado com 0,32 g/100 mL de pepsina (mucosa gástrica suína), 0,20 g/mL
266 de lipase gástrica (pâncreas de suíno), e 0,02 g/100 mL de quimosina a pH 1,2. O suco intestinal
267 foi preparado com 0,33 g/100mL de sais biliares, 0,25 g/100 ml de lactase e 0,25 g/100 ml de
268 lisozima, a pH 8,0. O suco pancreático foi preparado com 0,83 g/100mL de pancreatina,
269 0,10 g/100 mL de tripsina, e 0,02 g/100 mL de lipase gástrica (pâncreas de suíno), a pH 8,0.

270

271 *2.7.7.1. Digestão in vitro*

272

273 Os tratamentos foram preparados em cinco etapas. Primeiramente, colocou-se 1 g do pó
274 em 9 mL de saliva simulada e incubou-se a 37°C durante 5 min, quando foram acrescentados
275 10 mL de suco gástrico. Este foi deixado a 37 °C por dois tempos: 1 h e 3 h, simulando o tempo
276 em que o alimento é digerido no estômago. Na terceira hora de digestão, acrescentou-se 5 mL
277 de suco intestinal e 5mL de suco pancreático, que permaneceram a 37 °C também por dois
278 tempos, totalizando 4 h e 8 h de digestão. As amostras foram coletadas em duplicata nos
279 seguintes tempos: 5 min; 1 h; 3 h; 4 h; e 8 h diluídas em água peptonada (0,1%). Aliquotas de
280 1 mL das diluições adequadas foram transferidas para placas onde foi vertido em profundidade
281 com sobrecamada e incubação a 37°C por 72h em anaerobiose.

282

283 **3. Resultados e Discussão**

284

285 *3.1. Reologia*

286

287 Dentre os modelos utilizados para descrever o comportamento reológico das emulsões,
288 o modelo Lei da Potência apresentou os melhores ajustes aos dados experimentais, com altos
289 coeficientes de determinação ($R^2 \geq 0.9964$) e baixos valores de erro do quadrado médio (RMSE
290 ≤ 0.0802) (Tabela 2). O modelo Lei da Potência vem sendo extensivamente empregado em
291 aplicações práticas de engenharia para descrever as propriedades de fluxo de líquidos não
292 Newtonianos como as suspensões alimentares (Azarikia et al., 2017; Campelo et al., 2017;
293 Chalapud et al., 2018; Deswal et al., 2014; Junqueira et al., 2018; Silva et al., 2015).

294 **Tabela 2**

295 Parâmetros reológicos obtidos para os diferentes tratamentos.

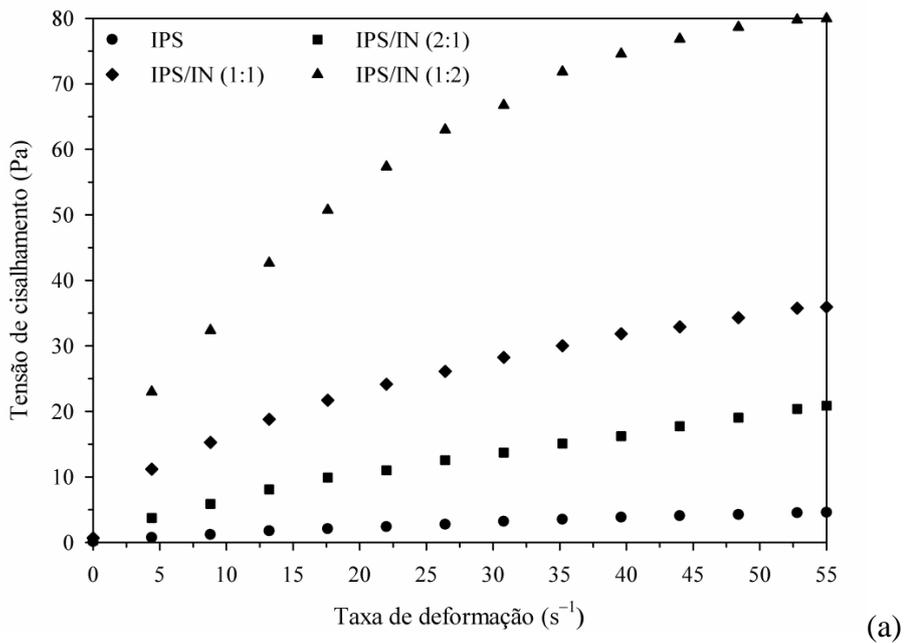
Material de parede	Lei da Potência			
	k	n	R^2	RMSE
IPS	0,2780 ± 0,0475 ^d	0,7046 ± 0,0341 ^a	0,9964	0,0802
IPS/IN (2:1)	1,2053 ± 0,1470 ^c	0,6804 ± 0,0263 ^a	0,9986	0,0447
IPS/IN (1:1)	1,5760 ± 0,1640 ^b	0,4609 ± 0,0651 ^b	0,9986	0,0309
IPS/IN (1:2)	2,0565 ± 0,2082 ^a	0,3442 ± 0,0295 ^b	0,9972	0,0788

296 Valores médios ± desvio padrão; $n = 2$. Médias seguidas de mesmas letras minúsculas na coluna
 297 não diferem entre si pelo teste *Tukey* ($p > 0.05$). k = índice de consistência (Pa.sⁿ); n = índice
 298 de comportamento de fluxo (adimensional); R^2 = coeficiente de determinação; RMSE =
 299 quadrado médio do resíduo; IPS = isolado proteico de soro; IN = inulina.

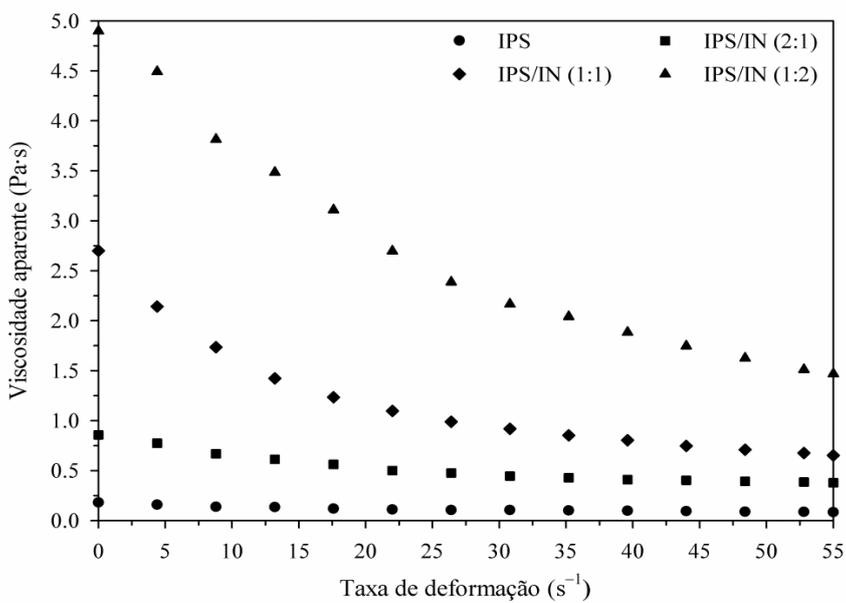
300

301 Observa-se que todas as emulsões apresentaram valores de n menores que uma unidade
 302 ($n \leq 0.7046$), o que aponta o comportamento não Newtoniano dos tratamentos, sendo
 303 caracterizados com típico comportamento pseudoplástico ($n < 1$). Conforme descrito por Seth
 304 et al. (2018), quanto mais distante do valor unitário mais o fluido se desvia do comportamento
 305 newtoniano. Em adição, é verificado que houve diferença significativa ($p \leq 0.05$) entre os
 306 tratamentos em relação aos valores de k (Pa.sⁿ), parâmetro diretamente relacionado com a
 307 natureza viscosa de um fluido, uma vez que os valores de k geralmente aumentam com a
 308 concentração de sólidos solúveis (Junqueira et al., 2018; Saeidy et al., 2019). Portanto, o
 309 comportamento reológico das emulsões foi influenciado pelo agente carreador sendo que a
 310 presença de inulina aumentou a viscosidade do fluido ($1.2053 \leq k \leq 2.0565$). A literatura aponta
 311 que a inulina pode ser um interessante agente de encapsulação, em razão de possuir
 312 consideráveis propriedades gelificantes devido à sua capacidade de ligação com a água, o que
 313 proporciona sistemas coloidais mais viscosos e estáveis. A consistência do fluido dependerá da
 314 concentração utilizada, tamanho da cadeia molecular e do tipo de tratamento térmico, bem
 315 como do processo de cisalhamento (Fernandes et al., 2017; Silva et al., 2015; Turchiuli et al.,
 316 2014). Enquanto o IPS pode ser utilizado também como um estabilizador, uma vez que
 317 apresenta menor influência sobre as propriedades reológicas das emulsões (Samavati et al.,
 318 2012).

319 As Figuras 1a e 1b representam a relação entre as variações de tensão de cisalhamento
 320 (Pa) e viscosidade aparente (Pa·s) em função da taxa de deformação (s^{-1}), respectivamente. No
 321 reograma, a tensão de cisalhamento em função da taxa de deformação demonstrou uma
 322 tendência não linear, isto é, seguem uma curva convexa, confirmando a pseudoplasticidade das
 323 amostras (Fig. 1a). Um fluido pseudoplástico é aquele em que a viscosidade diminui quando a
 324 taxa de deformação é aplicada (Fig. 1b).



(a)



(b)

325 **Fig. 1.** Comportamento reológico das emulsões.

326 3.2. Caracterização das micropartículas

327

328 As propriedades físicas das micropartículas probióticas secas por *spray drying*
329 formuladas com diferentes materiais de parede estão apresentadas na Tabela 3.

330 O conhecimento das propriedades de reconstituição de sistemas particulados é
331 importante em produtos alimentícios, pois se torna possível entender o seu comportamento
332 durante as etapas de processamento, acondicionamento, comercialização e chegada ao
333 consumidor final. A molhabilidade do pó ou a capacidade de micropartículas de absorver água
334 desempenha papel significativo na dispersão e atua como precursor da dissolução, característica
335 fundamental para uma boa reconstituição (Wu et al., 2019).

336 A mistura dos materiais de parede influenciou os valores para molhabilidade, onde os
337 melhores tempos ocorreram quando a inulina estava em maior quantidade, IPS/IN (1:1) e
338 IPS/IN (1:2). A baixa molhabilidade do pó e a menor taxa de dissolução são frequentemente as
339 principais causas da fraca reidratação de produtos microencapsulados (Ji et al., 2015; Wu et al.,
340 2019). As maiores concentrações de IPS em mistura com inulina (IPS/IN (2:1)) resultaram no
341 aumento dos tempos de molhabilidade dos produtos microencapsulados quando comparados
342 aos demais tratamentos. Isto se deve ao alto número de grupos hidrofílicos (-OH) presentes na
343 molécula de inulina que aumentaram a capacidade de aderência das moléculas de água na
344 superfície das microcápsulas (Fernandes et al., 2017). Além disso, é provável que ocorreu uma
345 rápida migração da fração lipídica presente nas moléculas de proteína para superfície da
346 micropartícula durante a secagem por *spray drying* devida a sua atividade superficial (Kim et
347 al., 2002), tornando a superfície hidrofóbica e reduzindo a molhabilidade.

348 **Tabela 3**
 349 Caracterização das micropartículas contendo *Lactobacillus acidophilus* LA14 produzidas nos diferentes tratamentos.

Material de parede	Molhabilidade (s)	Solubilidade (%)	Umidade (%)	A_w (%)	Eficiência de encapsulação (%)	d₃₂ (μm)	d₄₃ (μm)
IPS	613 ± 4 ^b	39 ± 4 ^b	3,98 ± 0,7 ^b	0,27 ± 0,2 ^c	75,11 ± 0,5 ^c	6,98 ± 0,7 ^b	9,03 ± 1,4 ^c
IPS/IN (2:1)	691 ± 5 ^a	51 ± 1 ^a	5,48 ± 0,7 ^{ab}	0,30 ± 0,5 ^b	85,27 ± 0,9 ^b	10,82 ± 0,9 ^a	12,55 ± 0,7 ^b
IPS/IN (1:1)	513 ± 4 ^c	53 ± 3 ^a	6,00 ± 0,7 ^{ab}	0,33 ± 0,1 ^b	83,96 ± 0,9 ^b	11,22 ± 1,9 ^a	12,09 ± 1,7 ^b
IPS/IN (1:2)	489 ± 3 ^c	56 ± 4 ^a	7,89 ± 0,6 ^a	0,44 ± 0,1 ^a	96,12 ± 0,8 ^a	12,79 ± 0,9 ^a	14,89 ± 0,8 ^a

350 Valores médios ± desvio padrão; n = 2. Médias seguidas de mesmas letras minúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste *Tukey* (p > 0.05).
 351 IPS = isolado proteico de soro; IN = inulina.

352

353 Verificou-se ainda que, o produto microencapsulado com maior quantidade de inulina
354 IPS/IN (1:2) apresentou maior teor de umidade. De acordo com estudos feitos por (Buffo et al.,
355 2002), produtos microencapsulados com umidade mais elevada, podem contribuir para a
356 capacidade de molhamento ou absorção de água, uma vez que o líquido penetra nos poros mais
357 facilmente. Para se obter um resultado eficaz durante a microencapsulação, é necessário um
358 material com boa solubilidade em água (Mehyar et al., 2014), sendo o último estágio de
359 dissolução das micropartículas, considerado um aspecto determinante para a qualidade destes
360 produtos (Jayasundera et al., 2011a).

361 No geral, os tratamentos apresentaram solubilidade baixa em relação a outros produtos
362 microencapsulados utilizando inulina como material de parede na proteção de probióticos (39
363 e 56%), resultado observado nos estudos feitos por Xavier et al. (2019). É provável que a
364 presença de pectina tenha influenciado a solubilidade das micropartículas, devido à sua
365 propriedade de gelificação, formando uma “caixa de ovos” por meio de interações eletrostáticas
366 entre os ânions carboxilatos nos cátions de pectina e cálcio (Deng et al., 2008; Jonassen et al.,
367 2013), bem como formando um hidrogel sólido em uma solução aquosa (Noh et al., 2018), que
368 resultou na redução da solubilidade em água à temperatura ambiente. A utilização da inulina
369 apresentou efeito significativo ($p < 0,05$) no aumento da solubilidade, considerando o caráter
370 hidrofílico desse material.

371 Karimi et al. (2015) e López-Castejón et al. (2019), afirmaram que a solubilidade em
372 água da inulina é caracterizada por seus grupos hidroxila, que são mais propensos a interagir
373 com moléculas de água do que outros grupos funcionais presentes em sua estrutura. É
374 importante notar que uma concentração mais alta de inulina ajuda na gelificação do IPS,
375 aumentando a atração entre as proteínas como resultado da hidratação da inulina (Glibowski &
376 Bochynska, 2006). Por outro lado, a capacidade das proteínas do soro de leite de se ligar a
377 vários compostos hidrofóbicos e anfífilos, como componentes aromatizantes, ácidos graxos e
378 vitaminas, como relatado por Zhang et al. (2012) e Flores et al. (2014), podem ter contribuído
379 para diminuir a solubilidade das micropartículas em comparação com as formulações contendo
380 maiores concentrações de inulina. Resultados semelhantes de solubilidade (62%) foram
381 encontrados nos estudos de Kalita et al. (2018) na microencapsulação de *Lactobacillus*
382 *plantarum*, utilizando proporções variadas de maltodextrina, frutooligosacarídeo (FOS) e
383 pectina.

384 O teor de umidade final do produto microencapsulado desempenha um papel importante
385 em seu escoamento, viscosidade e estabilidade durante o armazenamento (Moghbeli et al.,
386 2020). Houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos com maior concentração

387 de inulina e o tratamento que utilizou apenas WPI, onde o maior teor de umidade foi obtido
388 com o uso de inulina, em maior concentraação. Os produtos obtidos caracterizam-se por baixa
389 umidade e atividade de água. Ananta et al. (2005), afirmaram que a variação do teor de umidade
390 entre 4 e 7 g.100g⁻¹ é indicado para maximizar a estabilidade das micropartículas secas por
391 spray durante o armazenamento.

392 Micropartículas com baixos teores de umidade não apresentam formação de
393 aglomerados e, por outro lado, altos teores de umidade causam reduções significativas na
394 temperatura de transição vítrea diminuindo a estabilidade do produto. Em estudos realizados
395 por De Liz et al. (2020), a inulina contribuiu para maiores teores de umidade e atividade de
396 água na microencapsulação de bifidobactérias utilizando soro de leite de cabra como outro
397 material de parede em pó. Isso ocorreu devido à maior afinidade da inulina pelas moléculas de
398 água.

399 Em relação à eficiência de encapsulação, houve diferença significativa entre os
400 tratamentos indicando que as combinações entre IPS e IN, adicionadas de pectina foram
401 eficientes na proteção do *Lactobacillus acidophilus* LA14 durante o processo de secagem por
402 *spray drying*. O tratamento que apresentou melhor resultado para eficiência de encapsulação
403 (96,12%) foi IPS/IN (1:2). Resultados semelhantes (94,61%) para eficiência de encapsulação
404 de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* R7 foram encontrados por Rosolen et al. (2019) usando soro
405 de leite e inulina. Estes resultados se devem ao aumento da viscosidade da emulsão e
406 consequente aumento da tensão interfacial, conforme resultados previamente discutidos nas
407 análises reológicas (Fig. 1) (Burgess & Sahin, 1998). O aumento da viscosidade da emulsão até
408 um ponto relevante para um nível ótimo pode aumentar a retenção, em virtude da redução das
409 circulações internas com gotículas semipermeáveis, ocorrendo rápida formação de membrana
410 (Jafari et al., 2008).

411 Estudos de López-Castejón et al. (2019), mostraram um aumento significativo da
412 viscosidade em emulsões contendo maiores concentrações de inulina. Geralmente, quando um
413 polissacarídeo é adicionado em soluções pode-se observar um efeito espessante, ocasionando
414 em valores mais altos de viscosidade na proporção em que a concentração do polissacarídeo é
415 aumentada. A presença de pectina, pode ter auxiliado no aumento da viscosidade geral dos
416 tratamentos, uma vez que as interações eletrostáticas entre proteínas e polissacarídeos
417 carregados podem resultar em complexos supramoleculares que são capazes de combinar a
418 atividade superficial das proteínas com a capacidade dos polissacarídeos de compor uma
419 camada dupla estabilizadora de espessura aumentada, melhorando assim a estabilidade da

420 emulsão, possibilitando melhores resultados na eficiência de encapsulação (Telis & Regina,
421 2019).

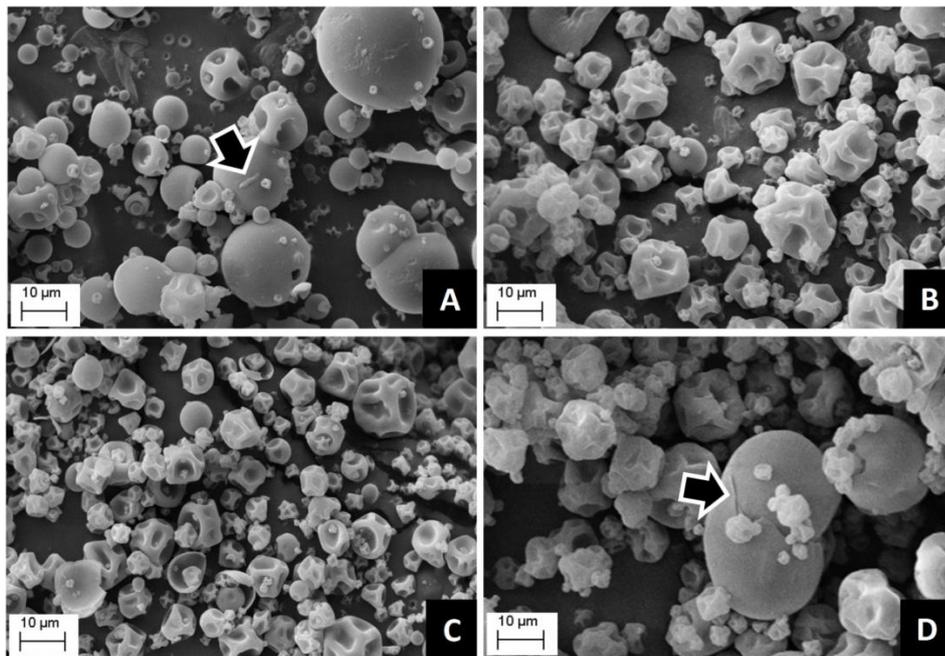
422

423 3.3. Morfologia e tamanho de partícula

424

425 Observa-se na Figura 2 que as micropartículas apresentaram formato esférico, com leves
426 depressões, típicas de materiais secos por pulverização (*spray drying*), nas quais ocorre o
427 encolhimento do material devido à rápida perda de água durante os estágios iniciais de secagem
428 (Ré, 1998). Não foram observadas rachaduras e poros aparentes na superfície das
429 micropartículas, o que é uma característica positiva para melhorar a proteção das células
430 probióticas, pois implica em menor contato com o oxigênio, luz e calor, além de garantir melhor
431 eficiência de encapsulação.

432



433

434 **Fig. 2.** Microscopia eletrônica de varredura das micropartículas contendo *L. acidophilus* LA14
435 produzidas com diferentes concentrações de materiais de parede: IPS – (A), IPS/IN (2:1) – (B),
436 IPS/IN (1:1) – (C) e isolado proteico de soro e inulina IPS/IN (1:2) – D.

437

438 Observa-se a presença da bactéria aderida (Fig. 2A e 2D) abaixo da superfície da
439 micropartícula, mostrando que o processo de microencapsulação por *spray drying* conseguiu
440 promover uma camada de proteção para as bactérias que ficaram aderidas nas extremidades da
441 micropartícula, promovendo maior proteção física aos microrganismos probióticos.

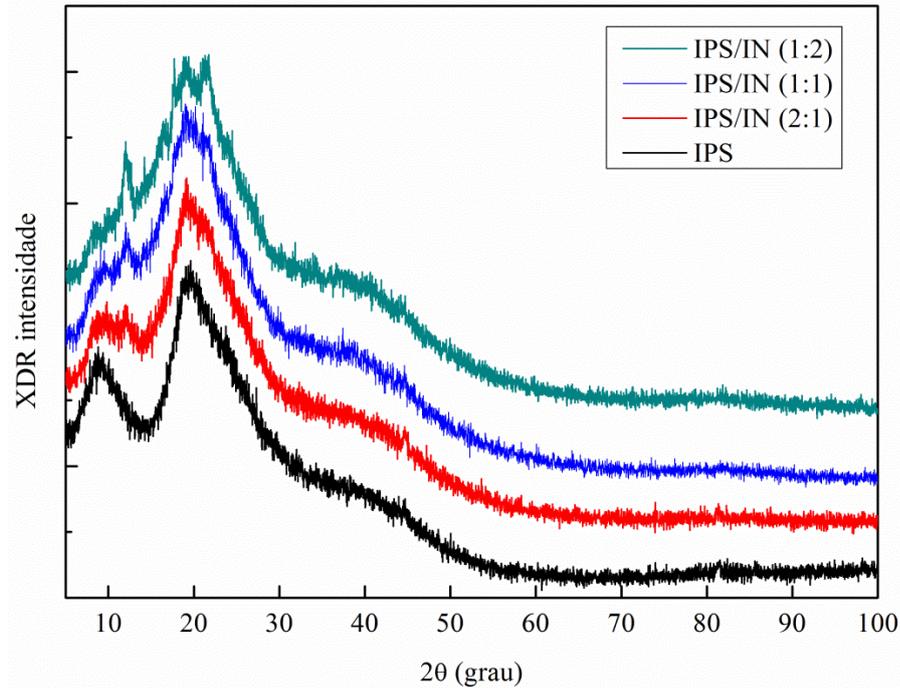
442 Notou-se ainda que a adição de inulina aumentou o diâmetro das partículas (Tabela 3),
443 onde o maior diâmetro foi encontrado na formulação contendo maiores concentrações de inulina
444 IPS/IN (1:2). Considerando o parâmetro d_{43} , o tratamento com apenas IPS foi o que apresentou
445 menor diâmetro. Segundo Cai & Corke (2000), o diâmetro das micropartículas depende dos
446 métodos de atomização, das propriedades dos materiais, da concentração e viscosidade da
447 solução. Isto explica o aumento do diâmetro nos tratamentos contendo inulina em comparação
448 com o tratamento contendo apenas IPS, onde a adição de inulina proporcionou maior
449 viscosidade da fase contínua (Fig. 1), incidindo no aumento do diâmetro das micropartículas.
450 O uso da inulina como substituto da gordura é promovido por sua solubilidade em água
451 específica, pois seus grupos hidroxila são mais propensos a interagir com as moléculas de água
452 do que outros grupos funcionais presentes em sua estrutura. Isso fornece à inulina a capacidade
453 de formar géis estáveis com água em concentrações em torno de 13 a 50% (Castelli et al., 2008;
454 Kim et al., 2001). Jafari et al. (2008), relacionaram o maior tamanho médio de partículas com
455 o aumento da eficiência de encapsulação. Em adição, Fernandes et al. (2014) mostraram que o
456 tamanho de partícula pode ser influenciado pela viscosidade da fase contínua.

457

458 *3.4. Difractometria de raio-X*

459

460 A difratometria de raio-X é um método que foi aplicado para identificar o grau de
461 cristalinidade alcançado entre os diferentes tratamentos. O nível de cristalinidade do material
462 seco por pulverização depende das condições de secagem e das características do produto, como
463 a presença de altas concentrações de carboidratos (Bhandari et al., 1997). É possível observar
464 que são estruturas semelhantes, mas com formação de regiões cristalinas em torno de 10 a 15°
465 nos tratamentos com maior concentração de inulina (Fig. 3).



466

467 **Fig 3.** Difratoograma de raio-X dos pós produzidos com misturas poliméricas: IPS; IPS/IN (2:1);
 468 IPS/IN (1:1) e IPS/IN (1:2).

469

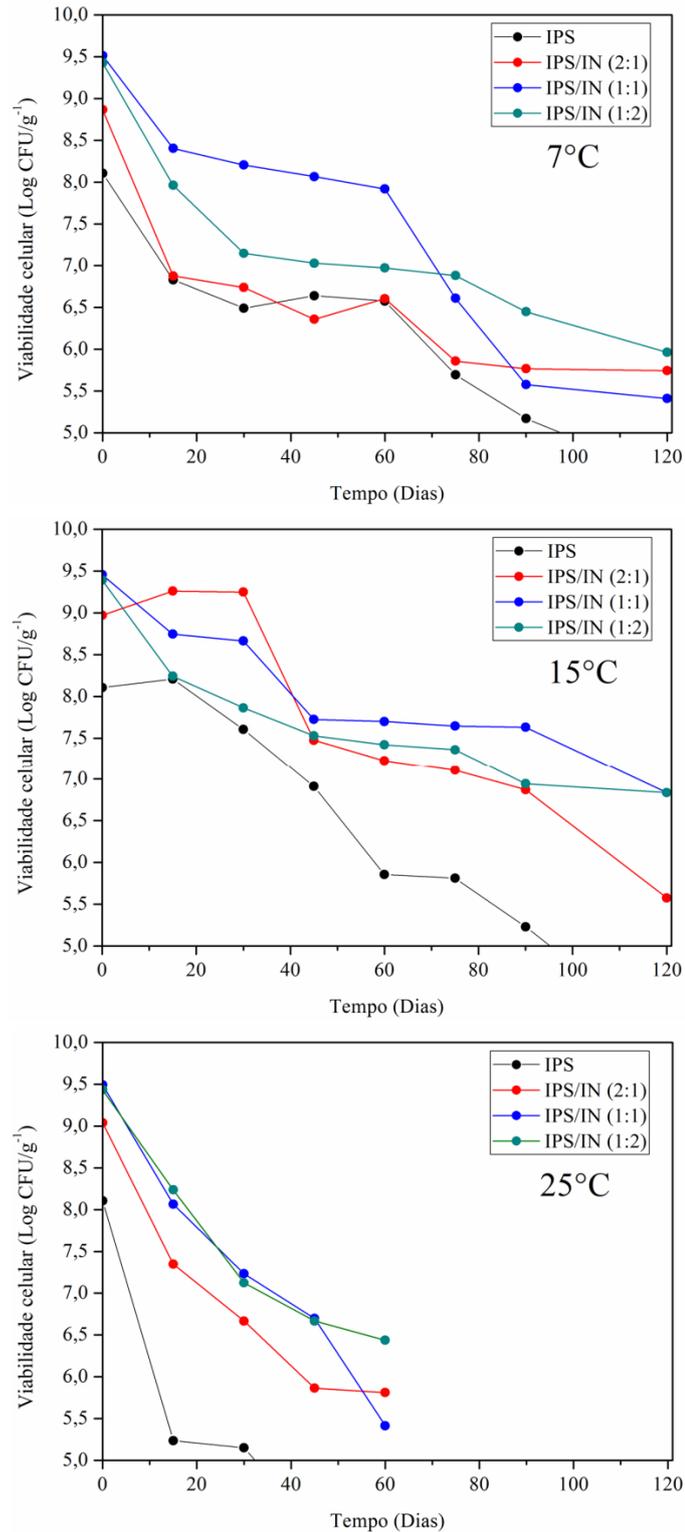
470 Os resultados indicam que não houve a preservação da fase amorfa entre os
 471 biopolímeros nas micropartículas com maiores concentrações de inulina. Em geral, um material
 472 cristalino apresenta picos acentuados, enquanto os produtos amorfos fornecem um padrão de
 473 pico mais amplo (Caparino et al., 2012). As estruturas de biopolímeros amorfos são mais
 474 propensas a serem formadas nos processos de secagem por secagem por spray (Botrel et al.,
 475 2014; Langrish & Wang, 2009), onde a natureza amorfa dos pós é devido à evaporação muito
 476 rápida da água e a rápida formação das micropartículas durante o processo de secagem
 477 (Jayasundera et al., 2011a). Nesta pesquisa, a presença de pectina aumentou o tempo de
 478 evaporação da água durante o processo de secagem, gerando tempo suficiente para a formação
 479 da região cristalina (Jayasundera et al., 2011b). Isto se deve a sua capacidade de formação de
 480 gel (Funami et al., 2011) e consequente retenção de água, conforme indicado nos teores de
 481 umidade dos pós resultantes (Tabela 3). Outro fator que pode ter influenciado no tempo de saída
 482 da água durante a secagem é a capacidade da pectina em forma uma bicamada com proteínas
 483 (Albano & Nicoletti, 2018), dificultando a evaporação da água e proporcionando a formação
 484 de regiões cristalinas durante o processo de secagem.

485 3.5. Efeito do tempo e temperatura de armazenamento na viabilidade do *Lactobacillus*
486 *acidophilus* LA14 microencapsulado

487

488 A presença da inulina, uma fibra solúvel, influenciou significativamente a viabilidade
489 de *L. acidophilus* LA14, preservando maior quantidade de células viáveis nas três temperaturas
490 de armazenamento estudadas (7, 15 e 25°C) (Fig. 4) considerando o tempo 0. De uma maneira
491 geral, a substituição de IPS por inulina influenciou positivamente na viabilidade celular a partir
492 da secagem até o final do armazenamento. Os tratamentos com inulina IPS/IN (1:1) e IPS/IN
493 (1:2) apresentaram maior viabilidade de células vivas após 120 dias de armazenamento nas
494 temperaturas de 15°C. Babu & Nithyalaks (2011), relataram que a inulina pode ser usada como
495 agente de proteção térmica na produção de microcápsulas simbióticas. De acordo com os
496 autores, a inulina forneceu maior resistência térmica ao *Lactobacillus casei* MTCC 1423 do que
497 o amido de milho de alta resistência. Resultados similares a esse estudo foram encontrados por
498 Rosolen et al. (2019), onde a contagem de *Lactococcus lactis subsp. lactis* R7 atingiu 8 log
499 UFC/g⁻¹ em microcápsulas elaboradas com IPS e IN como material de parede, a 25 °C.

500 Por outro lado, os tratamentos contendo maiores concentrações de IPS apresentaram
501 redução no número de células viáveis durante o armazenamento nas referidas temperaturas.
502 Essa redução pode estar relacionada ao estresse letal ou subletal que as células foram
503 submetidas durante o processo de secagem. Essas lesões celulares são provavelmente
504 ocasionadas pelo processo de secagem rápida (Santivarangkna et al., 2008).



505

506 **Fig. 4.** Efeito da temperatura de armazenamento na viabilidade de células probióticas vivas de
 507 *L. acidophilus* LA 14 microencapsulados (Log inicial de 10^9 UFC/g) em diferentes materiais
 508 de parede durante o armazenamento.
 509

510 Estudos feitos por Liao et al. (2017) avaliaram a influência de diferentes temperaturas
511 de armazenamento (-20, 4, 25 e 37°C) e concluíram que *Lactobacillus casei* LK-1 apresentou
512 maior viabilidade a -20°C quando comparado a outras temperaturas. Observa-se que nas
513 temperaturas de armazenamento de 7 e 15°C, foi possível manter a contagem mínima
514 recomendada de bactérias probióticas em alimentos funcionais (6 log UFC/g⁻¹) nos tratamentos
515 com maior concentração do prebiótico inulina, durante um período de quatro meses. Por outro
516 lado, houve redução logarítmica acentuada na temperatura de 25°C para todos os tratamentos.

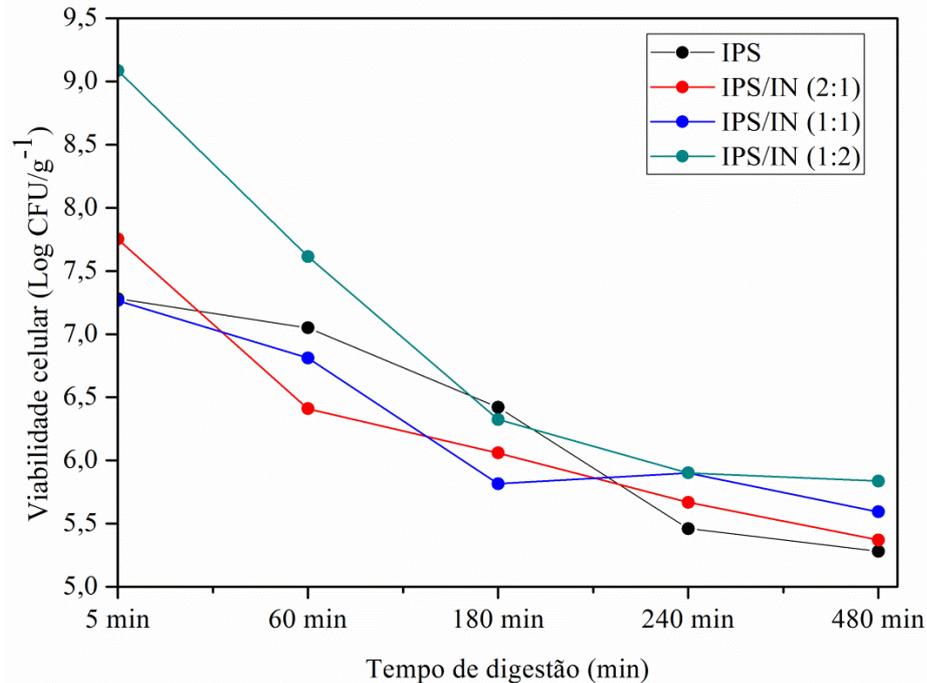
517 Vários estudos comprovam que o sinergismo entre o estado físico da matriz e a
518 temperatura de armazenamento afetam criticamente a viabilidade de microrganismos
519 probióticos secos por *spray drying* (Ananta et al., 2005; Fu & Chen, 2011; Meng et al., 2008).
520 A maioria das matrizes probióticas estabilizadas por *spray drying* são capazes de manter a
521 viabilidade a $\pm 7^\circ\text{C}$, no entanto existe um longo desafio para garantir a vida útil desses pós
522 armazenados em temperatura ambiente.

523

524 3.6. Sobrevivência de *Lactobacillus acidophilus* LA 14 em condição gastrointestinal simulada

525

526 Observou-se redução significativa ($p < 0,05$) do número de células viáveis de *L.*
527 *acidophilus* LA14 após exposição sequencial das condições gastrointestinais simuladas (Fig.
528 5). Os resultados mostraram que a substituição de IPS por inulina aumentou a proteção das
529 células bacterianas microencapsuladas as condições adversas em soluções gástricas com
530 variação de pH entre 1,2 e 8,0, durante 480 min. Sabe-se que a inulina não é digerida pelas
531 enzimas presentes no trato gástrico (Nunes et al., 2018; Pinto et al., 2015), sendo que esta
532 característica pode ter proporcionado maior proteção das células bacterianas microencapsuladas
533 quando comparadas ao tratamento contendo apenas IPS. Estes resultados também podem estar
534 associados a maior eficiência de encapsulação obtidos nos tratamentos contendo inulina,
535 possibilitando dessa forma, que um número suficiente de células viáveis alcancem o trato
536 intestinal para que exerçam ação benéfica ao hospedeiro até o final do tempo de digestão. Entre
537 os tratamentos estudados, os que continham maior concentração de inulina apresentaram a
538 contagem mínima de células viáveis (10^6) para serem considerados probióticos (Nazzaro et al.,
539 2009).



540

541 **Fig. 5.** Número de células viáveis de *Lactobacillus acidophilus* LA14 (Log UFC/g)
 542 microencapsuladas após incubação em soluções gástricas simuladas: saliva (pH 6,0) por 5 min,
 543 suco gástrico (pH 1,2) por 180 min, suco intestinal (pH 8,0) e suco pancreático (pH 8,0)
 544 totalizando 240 e 480 min de digestão (8 horas).

545

546 É possível observar perdas logarítmicas mais acentuadas em todos os tratamentos
 547 quando as micropartículas foram expostas ao suco intestinal e pancreático. Esta diminuição
 548 pode estar relacionada à ação direta da pancreatina, sais biliares e pH, ocasionando em danos
 549 na parede celular e conseqüentemente morte. A melhoria da proteção de probióticos pelo uso
 550 de prebióticos na microencapsulação de *L. acidophilus* e *L. casei* também foi observado por
 551 Krasaekoopt & Watcharapoka (2014). Um estudo feito por Pinto et al. (2015) mostrou que IPS
 552 e inulina usados separadamente não apresentaram influência significativa ($p > 0,05$) na
 553 sobrevivência de *Bifidobacterium animalis* BB-12 microencapsulado por *spray drying*,
 554 mostrando que a viabilidade gastrointestinal pode estar relacionada a proteção conferida pelas
 555 propriedades do material de parede durante a secagem, evitando maiores danos na parede
 556 celular do microrganismo.

557

558 4. Conclusões

559

560 As diferentes proporções de inulina e IPS nas misturas poliméricas influenciaram as
 561 características das micropartículas e a viabilidade do *L. acidophilus* encapsulado. O aumento

562 da proporção de inulina em relação ao IPS influenciou o comportamento reológico da emulsão,
 563 aumentando a viscosidade do fluido e melhorando também a molhabilidade do produto
 564 probiótico. A eficiência de encapsulação (EE) e a viabilidade do microrganismo do *L.*
 565 *acidophilus* LA14 durante o armazenamento em diferentes temperaturas, bem como nas
 566 condições gastrointestinais simuladas, foram maiores usando maiores concentrações de inulina
 567 IPS/IN (1:2), possuindo potencial suficiente para ser considerada como um produto probiótico
 568 e com potencial para uso em matrizes alimentícias.

569

570 **Referências**

571

572 Aberkane, L., Roudaut, G., & Saurel, R. (2014). Encapsulation and oxidative stability of pufo-
 573 rich oil microencapsulated by spray drying using pea protein and pectin. *Food and Bioprocess*
 574 *Technology*, 7(5), 1505–1517. <https://doi.org/10.1007/s11947-013-1202-9>.

575 Adhikari, B., Howes, T., Bhandari, B., & Langrish, T. A. G. (2009). Effect of addition of
 576 proteins on the production of amorphous sucrose powder through spray drying. *Journal of Food*
 577 *Engineering*, 94(2), 144–153. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.01.029>.

578 Albano, K. M., & Nicoletti, V. R. (2018). Ultrasound impact on whey protein concentrate-
 579 pectin complexes and in the O/W emulsions with low oil soybean content stabilization.
 580 *Ultrasonics Sonochemistry*, 41, 562–571. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.10.018>.

581 Amiri, S., Mokarram, R. R., Khiabani, M. S., Bari, M. R., & Khaledabad, M. A. (2019).
 582 Exopolysaccharides production by *Lactobacillus acidophilus* LA5 and *Bifidobacterium*
 583 *animalis* subsp. *lactis* BB12: Optimization of fermentation variables and characterization of
 584 structure and bioactivities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 123, 752–765.
 585 <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.084>.

586 Ananta, E., Volkert, M., & Knorr, D. (2005). Cellular injuries and storage stability of spray-
 587 dried *Lactobacillus rhamnosus* GG. *International Dairy Journal*, 15(4), 399–409.
 588 <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.08.004>.

589 Arepally, D., & Goswami, T. K. (2019). Effect of inlet air temperature and gum Arabic
 590 concentration on encapsulation of probiotics by spray drying. *LWT - Food Science and*
 591 *Technology*, 99, 583–593. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.10.022>.

592 Association of Official Analytical Chemists – AOAC. (2007). *Official methods of analysis*.
 593 (17th ed). AOAC.

594 Azarikia, F., Abbasi, S., Scanlon, M. G., & McClements, D. J. (2017). Emulsion stability
 595 enhancement against environmental stresses using whey protein–tragacanthin complex:

- 596 Comparison of layer-by-layer and mixing methods. *International Journal of Food Properties*,
597 20(2), 2084–2095. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1362651>.
- 598 Babu, G., & Nithyalaks, V. (2011). Influence of prebiotic composition on probiotic
599 survivability in calcium alginate coated synbiotic microcapsules at thermal incubation.
600 *Agricultural Journal*, 6(5), 231–236. <https://doi.org/10.3923/aj.2011.231.236>.
- 601 Bhandari, B. R., & Datta, N., Howes, T. (1997). Problems associated with spray drying of
602 sugar-rich foods. *Drying Technology*, 15(2), 671–684.
603 <https://doi.org/10.1080/07373939708917253>.
- 604 Botrel, D. A., Borges, S. V., Fernandes, R. V. de B., & Do Carmo, E. L. (2014). Optimization
605 of fish oil spray drying using a protein: Inulin system. *Drying Technology*, 32(3), 279–290.
606 <https://doi.org/10.1080/07373937.2013.823621>.
- 607 Buffo, R. A., Probst, K., Zehentbauer, G., Luo, Z., & Reineccius, G. A. (2002). Effects of
608 agglomeration on the properties of spray-dried encapsulated flavours. *Flavour and Fragrance*
609 *Journal*, 17(4), 292–299. <https://doi.org/10.1002/ffj.1098>.
- 610 Burgess, D. J., & Sahin, O. N. (1998). Influence of protein emulsifier interfacial properties on
611 oil-in-water emulsion stability. *Pharmaceutical development and technology*, 3(1), 21–29.
612 <https://doi.org/10.3109/10837459809028476>.
- 613 Cai, Y. Z. Z., & Corke, H. (2000). Production and properties of spray-dried *Amaranthus*
614 betacyanin pigments. *Journal of Food Science*, 65(7), 1248–1252.
615 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb10273.x>.
- 616 Campelo, P. H., Junqueira, L. A., Resende, J. V. de, Zacarias, R. D., Fernandes, R. V. de B.,
617 Botrel, D. A., & Borges, S. V. (2017). Stability of lime essential oil emulsion prepared using
618 biopolymers and ultrasound treatment. *International Journal of Food Properties*, 20(1), S564–
619 S579. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1303707>.
- 620 Cano-Chauca, M., Stringheta, P. C., Ramos, A. M., & Cal-Vidalb, J. (2005). Effect of the
621 carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional
622 characterization. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6(4), 420–428.
623 <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2005.05.003>.
- 624 Caparino, O. A., Tang, J., Nindo, C. I., Sablani, S. S., Powers, J. R., & Fellman, J. K. (2012).
625 Effect of drying methods on the physical properties and microstructures of mango (Philippine
626 ‘Carabao’ var.) powder. *Journal of Food Engineering*, 111(1), 135–148.
627 <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.01.010>.
- 628 Castelli, F., Sarpietro, M. G., Micieli, D., Ottimo, S., Pitarresi, G., Tripodo, G., Carlisi, B., &
629 Giammona, G. (2008). Differential scanning calorimetry study on drug release from an inulin-

- 630 based hydrogel and its interaction with a biomembrane model: pH and loading effect. *European*
631 *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 35(1–2), 76–85.
632 <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2008.06.005>.
- 633 Chalapud, M. C., Baümler, E. R., & Carelli, A. A. (2018). Emulsions of sunflower wax in pectin
634 aqueous solutions: Physical characterization and stability. *Food Research International*, 108,
635 216–225. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.03.053>.
- 636 Crittenden, R. G., Morris, L. F., Harvey, M. L., Tran, L. T., Mitchell, H. L., & Playne, M. J.
637 (2001). Selection of a Bifidobacterium strain to complement resistant starch in a synbiotic
638 yoghurt. *Journal of Applied Microbiology*, 90(2), 268–278. [https://doi.org/10.1046/j.1365-](https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2001.01240.x)
639 [2672.2001.01240.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2001.01240.x).
- 640 Da Silva, T. M., de Deus, C., Fonseca, B. de S., Lopes, E. J., Cichoski, A. J., Esmerino, E. A.,
641 da Silva, C. B., Muller, E. I., Flores, E. M. M., & de Menezes, C. R. (2019). The effect of
642 enzymatic crosslinking on the viability of probiotic bacteria (*Lactobacillus acidophilus*)
643 encapsulated by complex coacervation. *Food Research International*, 125.
644 <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108577>.
- 645 De Castro-Cislaghi, F. P., Silva, C. dos R. E., Fritzen-Freire, C. B., Lorenz, J. G., &
646 Sant'Annab, E. S. (2012). *Bifidobacterium* Bb-12 microencapsulated by spray drying with
647 whey: Survival under simulated gastrointestinal conditions, tolerance to NaCl, and viability
648 during storage. *Journal of Food Engineering*, 113(2), 186–193.
649 <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.06.006>.
- 650 De Liz, G. R., Verruck, S., Canella, M. H. M., Dantas, A., Garcia, S. G., Maran, B. M.,
651 Murakami, F. S., & Prudencioa, E. S. (2020). Stability of bifidobacteria entrapped in goat's
652 whey freeze concentrate and inulin as wall materials and powder properties. *Food Research*
653 *International*, 127. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108752>.
- 654 Deng, J., He, Q., Wu, Z., & Yang, W. (2008). Using glycidyl methacrylate as cross-linking
655 agent to prepare thermosensitive hydrogels by a novel one-step method. *Journal of Polymer*
656 *Science Part A: Polymer Chemistry*, 46(6), 2193–2201. <https://doi.org/10.1002/pola.22554>.
- 657 Deswal, A., Deora, N. S., & Mishra, H. N. (2014). Effect of concentration and temperature on
658 the rheological properties of oat milk. *Food and Bioprocess Technology*, 7(8), 2451–2459.
659 <https://doi.org/10.1007/s11947-014-1332-8>.
- 660 Fernandes, R. V. de B., Marques, G. R., Borges, S. V., & Botrel, D. A. (2014). Effect of solids
661 content and oil load on the microencapsulation process of rosemary essential oil. *Industrial*
662 *Crops and Products*, 58(11), 173–181. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.04.025>.
- 663 Fernandes, R. V. de B., Silva, E. K., Borges, S. V., de Oliveira, C. R., Yoshida, M. I., da Silva,

- 664 Y. F., Carmo, E. L. do, Azevedo, V. M., & Botrel, D. A. (2017). Proposing novel encapsulating
665 matrices for spray-dried ginger essential oil from the whey protein isolate-inulin/maltodextrin
666 blends. *Food and Bioprocess Technology*, *10*(1), 115–130. [https://doi.org/10.1007/s11947-](https://doi.org/10.1007/s11947-016-1803-1)
667 016-1803-1.
- 668 Flores, F. P., Singh, R. K., & Kong, F. (2014). Physical and storage properties of spray-dried
669 blueberry pomace extract with whey protein isolate as wall material. *Journal of Food*
670 *Engineering*, *137*(1), 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.03.034>.
- 671 Frascareli, E. C., Silva, V. M., Tonon, R. V., & Hubinger, M. D. (2012). Effect of process
672 conditions on the microencapsulation of coffee oil by spray drying. *Food and Bioprocess*
673 *Processing*, *90*(3), 413–424. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2011.12.002>.
- 674 Fritzen-Freire, C. B., Prudêncio, E. S., Amboni, R. D. M. C., Pinto, S. S., Negrão-Murakami,
675 A. N., & Murakami, F. S. (2012). Microencapsulation of bifidobacteria by spray drying in the
676 presence of prebiotics. *Food Research International*, *45*(1), 306–312.
677 <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.09.020>.
- 678 Fu, N., & Chen, X. D. (2011). Towards a maximal cell survival in convective thermal drying
679 processes. *Food Research International*, *44*(5), 1127–1149.
680 <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.03.053>.
- 681 Fuchs, M., Turchiuli, C., Bohin, M., Cuvelier, M. E., Ordonnaud, C., Peyrat-Maillard, M. N.,
682 & Dumoulin, E. (2006). Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidised bed
683 agglomeration. *Journal of Food Engineering*, *75*(1), 27–35.
684 <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.03.047>.
- 685 Funami, T., Nakauma, M., Ishihara, S., Tanaka, R., Inouea, T., & Phillips, G. O. (2011).
686 Structural modifications of sugar beet pectin and the relationship of structure to functionality.
687 *Food Hydrocolloids*, *25*(2), 221–229. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.11.017>.
- 688 Glibowski, P., & Bochynska, R. (2006). Effect of inulin on rheological properties of whey
689 protein solutions. *Acta Agrophysica*, *8*(2), 337–345.
- 690 Ilha, E. C., da Silva, T., Lorenz, J. G., Rocha, G. de O., & Sant'Anna, E. S. (2015). *Lactobacillus*
691 *paracasei* isolated from grape sourdough: acid, bile, salt, and heat tolerance after spray drying
692 with skim milk and cheese whey. *European Food Research and Technology*, *240*(5), 977–984.
693 <https://doi.org/10.1007/s00217-014-2402-x>.
- 694 Jafari, S. M., Assadpoor, E., He, Y., & Bhandari, B. (2008). Encapsulation efficiency of food
695 flavours and oils during spray drying. *Drying Technology*, *26*(7), 816–835.
696 <https://doi.org/10.1080/07373930802135972>.
- 697 Jayasundera, M., Adhikari, B., Howes, T., & Aldred, P. (2011a). Surface protein coverage and

- 698 its implications on spray-drying of model sugar-rich foods: Solubility, powder production and
699 characterisation. *Food Chemistry*, 128(4), 1003–1016.
700 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.006>.
- 701 Jayasundera, M., Adhikari, B., Adhikari, R., & Aldred, P. (2011b). The effects of proteins and
702 low molecular weight surfactants on spray drying of model sugar-rich foods: Powder
703 production and characterisation. *Journal of Food Engineering*, 104(2), 259–271.
704 <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.12.017>.
- 705 Ji, J., Cronin, K., Fitzpatrick, J., Fenelon, M., & Miao, S. (2015). Effects of fluid bed
706 agglomeration on the structure modification and reconstitution behaviour of milk protein isolate
707 powders. *Journal of Food Engineering*, 167, 175–182.
708 <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.01.012>.
- 709 Jonassen, H., Treves, A., Kjøniksen, A.-L., Smistad, G., & Hiorth, M. (2013). Preparation of
710 ionically cross-linked pectin nanoparticles in the presence of chlorides of divalent and
711 monovalent cations. *Biomacromolecules*, 14(10), 3523–3531.
712 <https://doi.org/10.1021/bm4008474>.
- 713 Junqueira, L. A., Amaral, T. N., Oliveira, N. L., Prado, M. E. T., & de Resende, J. V. (2018).
714 Rheological behavior and stability of emulsions obtained from pereskia aculeata miller via
715 different drying methods. *International Journal of Food Properties*, 21(1), 21–35.
716 <https://doi.org/10.1080/10942912.2018.1437177>.
- 717 Kalita, D., Saikia, S., Gautam, G., Mukhopadhyay, R., & Mahant, C. K. (2018). Characteristics
718 of synbiotic spray dried powder of litchi juice with *Lactobacillus plantarum* and different
719 carrier materials. *LWT - Food Science and Technology*, 87, 351–360.
720 <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.08.092>.
- 721 Karimi, R., Azizi, M. H., Ghasemlou, M., & Vaziriad, M. (2015). Application of inulin in
722 cheese as prebiotic, fat replacer and texturizer: A review. *Carbohydrate Polymers*, 119, 85–
723 100. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.11.029>.
- 724 Kawai, K., Fukami, K., Thanatuksorn, P., Viriyarattanasak, C., & Kajiwarac, K. (2011). Effects
725 of moisture content, molecular weight, and crystallinity on the glass transition temperature of
726 inulin. *Carbohydrate Polymers*, 83(2), 934–939. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.09.001>.
- 727 Kim, E. H.-J., Chen, X. D., & Pearce, D. (2002). Surface characterization of four industrial
728 spray-dried dairy powders in relation to chemical composition, structure and wetting property.
729 *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 26(3), 197–212. [https://doi.org/10.1016/S0927-7765\(01\)00334-4](https://doi.org/10.1016/S0927-7765(01)00334-4).
- 730
731 Kim, S.-J., Cho, S. Y., Kim, S. H., Song, O.-J., Shin, I.-S., Cha, D. S., & Park, H. J. (2008).

- 732 Effect of microencapsulation on viability and other characteristics in *Lactobacillus acidophilus*
733 ATCC 43121. *LWT - Food Science and Technology*, 41(3), 493–500.
734 <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.03.025>.
- 735 Kim, Y., Faqih, M. N., & Wang, S. S. (2001). Factors affecting gel formation of inulin.
736 *Carbohydrate Polymers*, 46(2), 135–145. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(00\)00296-4](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(00)00296-4).
- 737 Krasaekoopt, W., & Watcharapoka, S. (2014). Effect of addition of inulin and
738 galactooligosaccharide on the survival of microencapsulated probiotics in alginate beads coated
739 with chitosan in simulated digestive system, yogurt and fruit juice. *LWT - Food Science and*
740 *Technology*, 57(2), 761–766. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.01.037>.
- 741 Langrish, T. A. G., & Wang, S. (2009). Crystallization rates for amorphous sucrose and lactose
742 powders from spray drying: A comparison. *Drying Technology*, 27(4), 606–614.
743 <https://doi.org/10.1080/07373930802716391>.
- 744 Liao, L.-K., Wei, X.-Y., Gong, X., Li, J.-H., Huang, T., & Xiong, T. (2017).
745 Microencapsulation of *Lactobacillus casei* LK-1 by spray drying related to its stability and
746 in vitro digestion. *LWT - Food Science and Technology*, 82, 82–89.
747 <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.03.065>.
- 748 Linares, D. M., Gómez, C., Renes, E., Fresno, J. M., Tornadijo, M. E., Ross, R. P., & Stanton,
749 C. (2017). Lactic acid bacteria and bifidobacteria with potential to design natural biofunctional
750 health-promoting dairy foods. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1–11.
751 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00846>.
- 752 López-Castejón, M. L., Bengoechea, C., Espinosa, S., & Carrera, C. (2019). Characterization
753 of prebiotic emulsions stabilized by inulin and β -lactoglobulin. *Food Hydrocolloids*, 87, 382–
754 393. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.08.024>.
- 755 Mehyar, G. F., Al-Ismail, K. M., Al-Ghizzawi, H. M., & Holley, R. A. (2014). Stability of
756 Cardamom (*Elettaria Cardamomum*) essential oil in microcapsules made of whey protein
757 isolate, guar gum, and carrageenan. *Journal of food science*, 79(10), C1939-C1949.
758 <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12652>.
- 759 Meira, Q. G. S., Magnani, M., Júnior, F. C. M., Queirog, R. C. R. E., Madruga, M. S., Gullón,
760 B., Gomes, A. M. P., Pintado, M. M. E., & Souza, E. L. (2015). Effects of added *Lactobacillus*
761 *acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* probiotics on the quality characteristics of goat ricotta
762 and their survival under simulated gastrointestinal conditions. *Food Research International*, 76,
763 828–838. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.08.002>.
- 764 Meng, X. C., Stanton, C., Fitzgerald, G. F., Daly, C., & Ross, R. P. (2008). Anhydrobiotics:
765 The challenges of drying probiotic cultures. *Food Chemistry*, v. 106(4), 1406–1416.

- 766 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.076>.
- 767 Moghbeli, S., Jafari, S. M., Maghsoudlou, Y., & Dehnad, D. (2020). A Taguchi approach
768 optimization of date powder production by spray drying with the aid of whey protein-pectin
769 complexes. *Powder Technology*, 359, 85–93. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2019.10.013>.
- 770 Mohnen, D. (2008). Pectin structure and biosynthesis. *Current Opinion in Plant Biology*, 11(3),
771 266–277. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2008.03.006>.
- 772 Nazzaro, F., Fratianni, F., Coppola, R., Sada, A., & Orlando, P. (2009). Fermentative ability of
773 alginate-prebiotic encapsulated *Lactobacillus acidophilus* and survival under simulated
774 gastrointestinal conditions. *Journal of Functional Foods*, 1(3), 319–323.
775 <https://doi.org/10.1016/j.jff.2009.02.001>.
- 776 Noh, J., Kim, J., Kim, J. S., Chung, Y. S., Chang, S. T., & Park, J. (2018). Microencapsulation
777 by pectin for multi-components carriers bearing both hydrophobic and hydrophilic active
778 agents. *Carbohydrate Polymers*, 182, 172–179. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.11.026>.
- 779 Nunes, G. L., Etchepare, M. A., Cichoski, A. J., Zepka, L. Q., Lopes, E. J., Barin, J. S., Flores,
780 E. M. M., Silva, C. B., & Menezes, C. R. (2018). Inulin, hi-maize, and trehalose as thermal
781 protectants for increasing viability of *Lactobacillus acidophilus* encapsulated by spray drying.
782 *LWT - Food Science and Technology*, 89, 128–133. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.10.032>.
- 783 Özer, D., Akin, S., & Özer, B. (2005). Effect of inulin and lactulose on survival of *Lactobacillus*
784 *acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium bifidum* BB-02 in Acidophilus-Bifidus yoghurt. *Food*
785 *Science and Technology International*, 11(1), 19–24. [https://doi.org/](https://doi.org/10.1177/1082013205051275)
786 [10.1177/1082013205051275](https://doi.org/10.1177/1082013205051275).
- 787 Pereira, A. R. L., Cattelan, M. G., & Nicoletti, V. R. (2019). Microencapsulation of pink pepper
788 essential oil: Properties of spray-dried pectin/SPI double-layer versus SPI single-layer
789 stabilized emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 581.
790 [https://doi.org/ 10.1016/j.colsurfa.2019.123806](https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2019.123806).
- 791 Picot, A., & Lacroix, C. (2004). Encapsulation of bifidobacteria in whey protein-based
792 microcapsules and survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt.
793 *International Dairy Journal*, 14(6), 505–515. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2003.10.008>.
- 794 Pinto, S. S., Fritzen-Freire, C. B., Benedetti, S., Murakami, F. S., Petrus, J. C. C., Prudêncio, E.
795 S., & Amboni, R. D. M. C. (2015). Potential use of whey concentrate and prebiotics as carrier
796 agents to protect *Bifidobacterium*-BB-12 microencapsulated by spray drying. *Food Research*
797 *International*, 67, 400–408. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.11.038>.
- 798 Ré, M. I. (1998). Microencapsulation by spray drying. *Drying Technology*, 16(6), 1195–1236.
799 <https://doi.org/10.1080/07373939808917460>.

- 800 Ronkart, S. N., Paquot, M., Fougnyes, C., Deroanne, C., & Blecker, C. S. (2009). Effect of water
801 uptake on amorphous inulin properties. *Food Hydrocolloids*, 23(3), 922–927.
802 <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.06.003>.
- 803 Rosolen, M. D., Bordini, F. W., Oliveira, P. D., Conceição, F. R., Pohndorf, R. S., Fiorentini,
804 A. M., da Silva, W. P., & Pieniz, S. (2019). Symbiotic microencapsulation of *Lactococcus lactis*
805 subsp. *lactis* R7 using whey and inulin by spray drying. *LWT – Food Science and Technology*,
806 115. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108411>.
- 807 Saeidy, S., Nasirpour, A., Djelveh, G., Ursu, A.-V., Delattre, C., Pierre, G., & Michaud, P.
808 (2019). Emulsion properties of Asafoetida gum: Effect of oil concentration on stability and
809 rheological properties. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*,
810 560, 114–121. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2018.10.018>.
- 811 Samavati, V., Emam-Djomeh, Z., Mohammadifar, M. A., Omid, M., & Mehdinia, A. L. I.
812 (2012). Stability and rheology of dispersions containing polysaccharide, oleic acid and whey
813 protein isolate. *Journal of Texture Studies*, 43(1), 63–76. [https://doi.org/10.1111/j.1745-](https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2011.00317.x)
814 [4603.2011.00317.x](https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2011.00317.x).
- 815 Santivarangkna, C., Kulozik, U., & Foerst, P. (2008). Inactivation mechanisms of lactic acid
816 starter cultures preserved by drying processes. *Journal of Applied Microbiology*, 105(1), 1–13.
817 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2008.03744.x>.
- 818 Seth, D., Mishra, H. N., & Deka, S. C. (2018). Effect of hydrocolloids on the physico-chemical
819 and rheological properties of reconstituted sweetened yoghurt powder. *Journal of the Science*
820 *of Food and Agriculture*, 98(5), 1696–1702. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8641>.
- 821 Silva, E. K., Gomes, M. T. M. S., Hubinger, M. D., Cunha, R. L., & Meireles, M. A. A. (2015).
822 Ultrasound-assisted formation of annatto seed oil emulsions stabilized by biopolymers. *Food*
823 *Hydrocolloids*, 47, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.01.001>.
- 824 Telis, N., & Regina, V. (2019). O/W Emulsions stabilized by interactions between proteins and
825 polysaccharides. *Encyclopedia of Food Chemistry*, 494–498. [https://doi.org/10.1016/B978-0-](https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21483-2)
826 [08-100596-5.21483-2](https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21483-2).
- 827 Turchiuli, C., Munguia, M. T. J., Sanchez, M. H., Ferre, H. C., & Dumoulin, E. (2014). Use of
828 different supports for oil encapsulation in powder by spray drying. *Powder Technology*, 255,
829 103–108. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2013.08.026>.
- 830 Vivek, K., Mishra, S., & Pradhan, R. C. (2020). Characterization of spray dried probiotic
831 Sohiong fruit powder with *Lactobacillus plantarum*. *LWT - Food Science and Technology*, 117.
832 <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108699>.
- 833 Wu, S., Fitzpatrick, J., Cronin, K., & Miao, S. (2019). The effect of pH on the wetting and

- 834 dissolution of milk protein isolate powder. *Journal of Food Engineering*, 240, 114–119.
835 [https://doi.org/ 10.1016/j.jfoodeng.2018.07.022](https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.07.022).
- 836 Xavier dos Santos, D., Casazza, A. A., Aliakbarian, B., Bedani, R., Saad, S. M. I., & Perego,
837 P. (2019). Improved probiotic survival to in vitro gastrointestinal stress in a mousse containing
838 *Lactobacillus acidophilus* La-5 microencapsulated with inulin by spray drying. *LWT - Food*
839 *Science and Technology*, 99, 404–410. [https://doi.org/ 10.1016/j.lwt.2018.10.010](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.10.010).
- 840 Zhang, Y., & Zhong, Q. (2012). Binding between bixin and whey protein at pH 7.4 studied by
841 spectroscopy and isothermal titration calorimetry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,
842 60(7), 1880-1886. <https://doi.org/10.1021/jf2050262>.

**ARTIGO 2 - APLICAÇÃO DE MICROPARTÍCULAS CONTENDO
LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS LA14 NA PRODUÇÃO DE QUEIJO TIPO MINAS
PADRÃO PROBIÓTICO E AVALIAÇÃO DO PERFIL SENSORIAL DURANTE O
PERÍODO DE MATURAÇÃO.**

**APPLICATION OF MICROPARTICLES CONTAINING *LACTOBACILLUS*
ACIDOPHILUS LA14 IN THE PRODUCTION OF PROBIOTIC STANDARD MINE
CHEESE AND EVALUATION OF THE SENSORY PROFILE DURING THE
MATURATION PERIOD.**

Normas da Revista Científica: Food Research International
ISSN: 0963-9969
(Versão preliminar)

1 RESUMO

2 O objetivo deste trabalho foi caracterizar micropartículas produzidas por *spray drying*
3 quanto a sua microestrutura contendo como material encapsulado *Lactobacillus acidophilus*
4 LA 14 e materiais encapsulantes, isolado proteico de soro (IPS), inulina (IN) e pectina (P) e
5 avaliar a sua influência e das cepas probióticas no perfil sensorial do queijo tipo minas padrão
6 durante 30 dias de maturação. Foram desenvolvidos os quatro tipos de micropartículas
7 avaliadas em delineamento totalmente casualizado contendo diferentes concentração de IPS e
8 IN, e P fixa em 2% com duas repetições. Para avaliação do perfil sensorial foram realizados os
9 testes CATA (*Check All That Apply*) e aceitação, com aplicação de MANOVAS para melhor
10 avaliar os atributos sensoriais ao longo do tempo. A IN proporcionou maior eficiência de
11 encapsulação e viabilidade das cepas microencapsuladas durante o tempo de maturação do
12 queijo respectivamente. As imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV), mostraram
13 que não houve rachaduras nas micropartículas. No geral, as características de teor de gordura
14 física-definidas, com teor de gordura baixos, diferenciações no pH apenas após 20 dias de
15 maturação. As imagens de MEV dos queijos mostraram que apenas micropartículas contendo
16 maior concentração de IN não dissolveram na massa do queijo. Foi encontrado maior
17 viabilidade de *L. acidophilus* LA 14 ($\geq 10^6$ UFC/g) nos queijos contendo micropartículas com
18 maior concentração de IN. Os testes CATA mostraram que houve influência positiva da IN e
19 da cepa de *L. acidophilus* LA 14 na percepção dos atributos sensoriais do queijo tipo minas
20 padrão durante os 30 dias de maturação.

21 **Palavras-chave:** *Spray drying*, Probiótico, Inulina, Viabilidade, Análise sensorial.

22 ABSTRACT

23 This work aimed to characterize microparticles produced by spray drying regarding
24 their microstructure containing *Lactobacillus acidophilus* LA 14 as encapsulated material and
25 as encapsulating materials whey protein isolate (WPI), inulin (IN) and pectin (P) and to evaluate
26 their and the probiotic strains influence in the sensory profile of standard Minas cheese during
27 30 days of ripening. Four types of microparticles were developed and evaluated in a completely
28 randomized design containing different concentrations of WPI and IN, and P fixed at 2% with
29 two replications. To assess the sensory profile, CATA (Check All That Apply) and acceptance
30 tests were performed, with the application of MANOVAS to better assess the sensory attributes
31 over time. IN provided greater encapsulation efficiency and viability of microencapsulated
32 strains during the cheese maturation time, respectively. Scanning electron microscopy (SEM)
33 images, revealed that there were no cracks in the microparticles. In general, the physical-defined
34 characteristics, with low fat content, with low fat content, differences in pH only after 20 days
35 of maturation. The SEM images of cheeses showed that only microparticles containing a higher
36 concentration of IN did not dissolve in the cheese dough. Greater viability of *L. acidophilus* LA
37 14 ($\geq 10^6$ CFU/g) was found in cheeses containing microparticles with a higher concentration
38 of IN. The CATA tests showed a positive influence of IN and the *L. acidophilus* LA 14 strain
39 on the sensorial attributes perception of the standard Minas cheese during the 30 days of
40 maturation.

41 **Keywords:** Spray drying, Probiotic, Inulin, Viability, Sensory analysis.

42 1. Introdução

43

44 A conscientização dos consumidores sobre os benefícios relacionados ao consumo de
45 alimentos saudáveis aumentou a demanda por alimentos funcionais, principalmente os que
46 contêm probióticos (Sarkar et al., 2016; Vivek et al., 2020). No intestino, os probióticos podem
47 ajudar na manutenção da homeostase da mucosa e proteger a mucosa de fatores prejudiciais
48 como desequilíbrio da flora intestinal e aparelho digestivo (Rao & Samak, 2013).

49 As espécies pertencentes ao gênero *Lactobacillus* são os probióticos mais estudados
50 para incorporação em alimentos e têm sido amplamente utilizados como ingredientes ativos em
51 produtos lácteos funcionais (Meira et al., 2015; Amiri et al., 2019). Os laticínios são a categoria
52 com maior quantidade de alimentos probióticos à disposição no mercado. Isto está ligado ao
53 fato do leite ser parte natural e nutritiva de uma dieta equilibrada. O desenvolvimento da
54 funcionalidade em produtos lácteos consiste em modificar e/ou enriquecer a base original, que
55 já é saudável (Pimentel et al., 2017). Produtos lácteos fermentados, como iogurte, leite
56 fermentado e bebidas fermentadas de soro de leite, compreendem a maioria dos alimentos que
57 contêm culturas probióticas. Eles são adequados para incorporação de probióticos porque já
58 apresentam imagem positiva no mercado consumidor, e não exigem mudanças significativas na
59 tecnologia envolvida e no processo de fabricação para incluir as culturas probióticas. Além dos
60 produtos lácteos fermentados, outros produtos podem ser adicionados com culturas probióticas,
61 como queijos, sorvetes e sobremesas lácteas (Granato et al., 2019).

62 O consumo de queijo é popular em muitos países do mundo porque está associado a
63 benefícios reais à saúde dos consumidores e também por causa de seu sabor e aroma (Farias et
64 al., 2019). Estima-se que no ano de 2019 cerca de 26 milhões de toneladas de queijo foram
65 comercializados em todo o mundo (Global Trade, 2020) sendo dos mais diversos tipos.
66 Diferentes tipos de queijos foram avaliados recentemente como portadores de culturas
67 probióticas, como creme fresco (Speranza et al., 2018), Prato (Silva et al., 2018), Pico (Ribeiro
68 et al., 2018), Minas Frescal (Felicio et al., 2016) e cheddar (Demers-Mathieu et al., 2016). O
69 queijo Minas Padrão é um queijo típico brasileiro, tradicionalmente fabricado usando cultura
70 mesofílica composta por *Lactococcus lactis* ssp. cremoris e *L. lactis* ssp. lactis (Costa et al.,
71 2019), que conferem a ele sabor suave, textura macia e levemente amarelada (Matera et al.,
72 2018). Em queijos maturados, os probióticos podem permanecer viáveis por longos períodos
73 de tempo, podendo se tornar tendência o desenvolvimento desse tipo de queijos probióticos
74 (Silva et al., 2018).

75 No entanto, é importante selecionar as condições de processamento, o procedimento de
76 cozimento e as temperaturas de maturação e armazenamento (Shori, 2015). A
77 microencapsulação pode oferecer boa alternativa tecnológica para uso na indústria de queijos,
78 recebendo considerável interesse (Castro et al., 2015). A indústria de alimentos procura a
79 microencapsulação com o objetivo de acrescentar valor aos seus produtos e se destacar no
80 mercado (Silva et al., 2019).

81 As micropartículas possuem na sua composição polímeros de fontes renováveis como
82 proteínas e carboidratos, formando desta forma a parede da micropartícula. Geralmente estes
83 materiais de parede são usados em conjunto devido as suas propriedades distintas, tornando
84 desta forma o processo de encapsulação mais eficiente.

85 Entre os materiais de parede, o isolado proteico de soro de leite é descrito como um
86 material favorável ao encapsulação de probióticos, considerando que é um subproduto da
87 indústria de laticínios e apresenta baixo custo e alto valor nutricional (Ilha et al., 2015). Outro
88 material atualmente usado para proteger as bactérias probióticas é a inulina, um oligossacarídeo
89 do tipo frutano, encontrado em ampla variedade de plantas, reconhecido como composto
90 prebiótico. É uma fibra fermentável que não pode ser digerida pelas enzimas do trato gástrico,
91 estimulando seletivamente o crescimento de bactérias benéficas do cólon (Nunes et al.,
92 2018; Pinto et al., 2015). A pectina é um hidrocoloide utilizado na microencapsulação por *spray*
93 *drying* também chamada de agente estabilizador, gelificante ou espessante (Macků et al., 2009).
94 Os hidrocolóides comercialmente importantes que podem ser utilizados na indústria de
95 laticínios são, por exemplo, carragena, goma de alfarroba, xantana, amidos modificados ou
96 pectina (Trivedi et al., 2008). Os sacarídeos podem estar presentes no queijo processado como
97 componente de alguns ingredientes usados na fabricação de queijos processados, por exemplo,
98 formas nativas ou modificadas de amidos (glicose), soro de leite em pó e leite em pó desnatado
99 (lactose e seus monômeros constituintes) ou podem ser incluídos em vários agentes
100 aromatizantes (Guinee et al., 2004).

101 As espécies pertencentes ao gênero *Lactobacillus* são os probióticos mais estudados para
102 incorporação em alimentos e têm sido amplamente utilizados como ingredientes ativos em
103 produtos lácteos funcionais (Meira et al., 2015; Amiri et al., 2019).

104 Como base neste contexto, o objetivo do trabalho foi desenvolver um queijo tipo Minas
105 Padrão probiótico, utilizando inóculo bacteriano obtido através da microencapsulação por *spray*
106 *drying*, com materiais de parede isolado proteico de soro (IPS), inulina (IN) e pectina (P),
107 visando o aumento da viabilidade prolongada da espécie inoculada *Lactobacillus acidophilus*
108 LA 14 durante os tempos de maturação estudados. Além disso, o presente estudo teve como

109 foco a avaliação da influência desses materiais de parede e das cepas probióticas nas percepções
110 sensoriais do queijo tipo Minas Padrão durante o tempo de maturação.

111

112 **2. Material e Métodos**

113

114 *2.1. Materiais*

115

116 Para produção das micropartículas foram utilizados os materiais de parede: Isolado
117 proteico de soro de leite (91% de proteína – IPS 9410) fornecido pela Hilmar Ingredients,
118 Texas, (EUA), Inulina (grau de spolimerização > 13, Orafti®HP, Beneo - Orafti, Tienen,
119 Bélgica), e Pectina em pó fornecida por (Newsletter, São Paulo, Brasil). Para produção do
120 queijo tipo Minas Padrão foi utilizado leite de vaca recém-ordenhados do rebanho leiteiro da
121 fazenda Palmital do Campus de Desenvolvimento Tecnológico da Universidade Federal de
122 Lavras.

123

124 *2.2. Microrganismos e condições de cultivo*

125

126 *Lactobacillus acidophilus* LA14 foi isolado do alimento funcional *Prolive* (Aché
127 Laboratórios Farmacêuticos S.A, Guarulhos, São Paulo, Brasil) e mantido no laboratório de
128 Microbiologia de Alimentos do Departamento de Ciência dos Alimentos UFLA, mantido a -
129 18°C em meio de congelamento, foi utilizada nesse trabalho. A cepa estoque foi reativada em
130 caldo MRS (Man, Rogosa & Sharpe) a 37°C/12h, seguido por três repicagens consecutivas em
131 caldo MRS e incubação a 37°C por 16h. Após ativação, a cultura foi centrifugada a 7100 x g,
132 por 5 min, o pellet lavado duas vezes com água estéril e ressuspendido em solução salina
133 (0,85%) para ser utilizada. A cultura foi padronizada por curva de crescimento, sendo realizado
134 o acompanhamento da absorbância (D.O. 600nm) da cultura em clado MRS e plaqueamento
135 em ágar MRS, ambos incubados a 37°C. A suspensão foi padronizada em cerca de 10⁹ UFC/mL.

136

137 *2.3. Preparo das suspensões de alimentação*

138

139 As soluções de alimentação foram preparadas segundo Fritzen-Freire et al. (2012), com
140 modificações. Foram utilizadas 4 matrizes encapsulantes diferentes na concentração final de
141 20% (m/m): IPS; IPS/IN (2:1); IPS/IN (1:1) e IPS/IN (1:2). Todas as soluções de alimentação
142 foram homogeneizadas em água destilada estéril (esterilizadas por 30 min à 120°C). Os

143 materiais de parede foram previamente esterilizados em luz UV por 25 min, sobrepostos em
 144 camadas finas de 4 mm. Após a esterilização dos materiais da solução de alimentação, a
 145 biomassa bacteriana (10^9 UFC/mL) previamente centrifugada e resuspendida em solução salina
 146 (0,85%), foi adicionada em 700 mL em cada solução de alimentação.

147

148 2.4. Delineamento experimental

149

150 Foram avaliados, no processo de microencapsulação, diferentes tratamentos em função
 151 dos materiais de parede utilizados. Foram realizadas secagens em duas repetições para cada
 152 tratamento e as análises foram conduzidas em triplicata. O delineamento experimental aplicado
 153 está descrito na Tabela 1.

154

155 **Tabela 1**

156 Delineamento experimental para as misturas dos materiais de parede e formulação dos queijos
 157 tipo Minas Padrão.

Queijo	Micropartículas	Materiais carreadores (g/100 g de solução)			
		Pó com L.A (g)	IPS	IN	Pectina*
A	IPS	3	20	0	2
B	IPS/IN (2:1)	3	13,33	6,67	2
C	IPS/IN (1:1)	3	10	10	2
D	IPS/IN (1:2)	3	6,67	13,33	2

158 *Foi utilizado 2% de pectina em cada tratamento.

159

160 2.5. Microencapsulação por *Spray Drying*

161

162 *Lactobacillus acidophilus* LA14 foi microencapsulado em *spray drying* de escala piloto
 163 (modelo MSD 1.0; Labmaq do Brasil, Ribeirão Preto, Brasil), operando em temperatura
 164 constante de entrada de ar à 110°C e temperatura de saída à 63 à 65°C. As soluções de
 165 alimentações foram mantidas sob agitação magnética a temperatura ambiente
 166 (aproximadamente 26°C) e alimentados na câmara principal através de uma bomba peristáltica,
 167 com fluxo de alimentação de 0.5 L.h⁻¹ segundo revisão feita por Jafari et al. (2008) e fluxo de
 168 ar comprimido de 40 L.m⁻¹. O pó resultante (micropartículas) foi coletado na base do ciclone e

169 estocado em frasco estéril selado e mantidos à 4°C para posteriores análises (Castro-Cislaghi et
170 al., 2012).

171

172 2.6. Caracterização das micropartículas

173

174 2.6.1. Microestrutura das micropartículas

175

176 A morfologia da superfície das micropartículas foi analisada por microscopia eletrônica de
177 varredura (MEV). As micropartículas foram fixadas em suporte de alumínio e em seguida,
178 foram submetidas à metalização com ouro até a espessura de 350 Å sob vácuo no equipamento
179 Balzers Sputtering SCD-030. Visualização de amostras em várias ampliações ($\times 110$ – 12.000)
180 foram feitas com um escaneamento microscópio eletrônico LEO Evo 40 com aceleração de 15
181 kV Voltagem.

182

183 2.7. Produção do queijo tipo Minas Padrão

184

185 O queijo tipo Minas Padrão foi fabricado no mesmo dia, com duas replicas para cada
186 tipo de micropartículas adicionas na massa. O leite de vaca cru, foi pasteurizado a 65°C por 30
187 minutos e resfriado a 20°C. Em seguida foi adicionado cloreto de cálcio (50%, p/v, 40 mL 100
188 L⁻¹). Após 20 min foi adicionado quimosina coagulante a 100% (Chy-Max M, 1000 IMCU/MI,
189 Chr. Hansen, Valinhos, São Paulo, Brasil). Após 40 minutos de coagulação, foi realizado cortes
190 de 2 a 3 cm de aresta e deixado em repouso por 3 min para formação da película do grão. Em
191 seguida foi realizado a mexedura lenta da coalhada por 20 min. Logo após, foi realizado a
192 dessoragem e posterior prensagem da massa, com retirada de 60% do soro. A salga foi realizada
193 pela adição de sal na coalhada (1,7% p/p) com posterior viragem da massa. Logo após, foi
194 adicionado as micropartículas (3 g) contendo *Lactobacillus acidophilus* LA14, produzidas
195 conforme descrito anteriormente (quatro tratamentos) como substituinte do fermento mesofílico
196 tradicional utilizado na produção do queijo Minas Padrão. A coalhada foi colocada em moldes
197 cilíndricos sobe refrigeração à 12 a 14°C, durante 30 dias.

198

199 2.8. Caracterização físico química dos queijos tipo Minas Padrão

200

201 Foi coletado, de forma aleatória, um queijo (amostra) de cada tratamento. Este
202 procedimento foi adotado em todos os tempos (0, 10, 20 e 30 dias de maturação).

- 203 A caracterização dos queijos tipo Minas Padrão com um dia de fabricação:
- 204 a) **pH:** determinado com potenciômetro da marca Tecnal (modelo Tec-3MP), previamente
205 calibrado, efetuando-se quatro leituras por amostra (Brasil, 2006);
- 206 b) **gordura total:** o teor de gordura total das amostras de queijo foi determinado pelo método
207 Butitométrico (m/m) para queijo, utilizando-se centrífuga, tipo Gerber (Brasil, 2006). Os teores
208 de gordura, no extrato seco (GES), foram calculados dividindo-se os teores de gordura do queijo
209 pelo seu teor de extrato seco total;
- 210
- 211 c) **proteína total:** o conteúdo de nitrogênio total dos queijos foi determinado, empregando-se
212 o método Micro Kjeldahl, compreendendo as fases de digestão, destilação e titulação (Brasil,
213 2006). Foi utilizado o fator 6,38 para estimativa do teor de proteína total;
- 214
- 215 d) **resíduo mineral fixo (cinzas):** o teor foi determinado pela eliminação da matéria orgânica
216 à temperatura de 550°C, obtendo-se resíduo mineral fixo (Brasil, 2006);
- 217
- 218 e) **gordura no extrato seco (GES):** foi calculada dividindo-se os teores de gordura do queijo
219 pelo seu teor de extrato seco total;
- 220
- 221 f) **atividade de água:** 2(g) de amostra de queijo foi ralada e levada para equipamento Aqualab
222 (3TE, Decagon Devices, São José dos Campos, SP, Brasil) em temperatura ambiente de 25°C;
- 223
- 224 g) **umidade:** o teor de umidade foi obtido pelo método gravimétrico e calculado por diferença
225 (100% - porcentagem de extrato seco total) (Brasil, 2006).
- 226

227 *2.9 Avaliação do pH dos queijo tipo Minas Padrão durante o tempo de maturação (0, 10, 20 e*
228 *30 dias)*

229

230 **Amostras**

231 Foi coletado, de forma aleatória, uma amostra de queijo de cada tratamento. Todas as
232 amostras foram submetidas ao teste de pH em todos os tempos 0, 10, 20 e 30 dias de maturação.

233 Caracterização dos queijos tipo Minas Padrão com um dia de fabricação:

234

235 a) **pH:** determinado com potenciômetro da marca Tecnal (modelo Tec-3MP), previamente
236 calibrado, efetuando-se quatro leituras por amostra (Brasil, 2006).

237 2.10. Análises microbiológicas

238

239 Para análises de salmonella sp., aeróbios mesofílicos, coliformes totais e
240 termotolerantes foram realizados de acordo com (Silva et al., 2017).

241

242 2.11. Microestrutura dos queijos tipo Minas Padrão adicionados de micropartículas 243 probióticas

244

245 Após a pré-fixação das amostras, todas foram transferidas para glicerol, por um período
246 de 30 minutos e, posteriormente, foram realizadas as fissuras dos cortes em nitrogênio líquido
247 (criofratura). As unidades de amostras foram desidratadas em gradiente crescente de etanol nas
248 seguintes concentrações: 25%, 50%, 75%, 90%, 95% e 100%, todas por 10 minutos e a última
249 concentração foi realizada duas vezes. Após a etapa de desidratação, foram levadas para o
250 aparelho de ponto crítico modelo Baltec CPD 030, no qual se potencializou e finalizou a fase
251 de secagem. Todas as amostras foram dispostas de forma representativa em stubs, metalizadas
252 no aparelho evaporador de carbono modelo Baltec CED 020. Após a metalização via fixação
253 em ouro, as amostras foram conduzidas ao aparelho de microscopia eletrônica de varredura
254 modelo LEO EVO 40 XVP Zeiss, à temperatura máxima de 16°C.

255

256 2.12. Viabilidade do microrganismo presente queijo tipo Minas Padrão durante o período de 257 maturação

258

259 Amostras de 25 g de queijo foram adicionadas de 225 mL de solução de citrato de sódio
260 (2% m/v) e homogeneizadas em homogeneizador tipo Stomacher (490 golpes/min) por três
261 minutos. Em seguida foram realizadas diluições seriadas em água peptonada (0,1% m/v).
262 Alíquotas de 1 mL das diluições adequadas foram transferidas para placas de Petri e vertido
263 ágar MRS (Man, Rogosa & Sharp) empregando-se a técnica de plaqueamento em profundidade
264 com sobrecamada. As placas foram incubadas a 37°C por 48h (Silva et al., 2017). Após esse
265 período, foram realizadas contagens viáveis de células. Foram avaliados os tempos de
266 maturação de 0, 10, 20 e 30 dias. Alíquotas de 1 mL de diluições apropriadas foram transferidas
267 para placas e foi usado o método de placa vazada.

268

269 2.13. Análise sensorial

270

271 Os testes sensoriais foram realizados no Laboratório de Análise Sensorial do
272 Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras (UFLA) em
273 cabines individuais. As questões éticas foram aprovadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa com
274 Seres Humanos da UFLA (CAAE: 48867315.0.0000.5148). A coleta de dados ocorreu em
275 cabines sensoriais sob luz branca. A temperatura e fluxo de ar foram controlados (Macfie et al.,
276 1989). Os provadores foram instruídos a provar e avaliar cada amostra e a enxaguar a boca com
277 água entre as amostras. Os participantes eram consumidores diários de queijo, masculino e
278 feminino, com idade variando de 18 a 50 anos. Os queijos foram distribuídos aos provadores
279 em temperatura ambiente (25°C).

280

281 2.13.1. *Check-all-that-apply (CATA) e aceitação*

282

283 O método CATA foi realizado por 234 consumidores de iogurte, recrutados
284 aleatoriamente, que avaliaram as quatro amostras codificadas (5 g) de forma balanceada e
285 monádica (Varela & Ares, 2012). As amostras continham quantidades iguais de *L. acidophilus*
286 LA14, mas com proporções diferentes de isolado proteico de soro e inulina (IPS, IPS/IN (2:1),
287 IPS/IN (1:1) e IPS/IN (1:2), afim de avaliar a influência desses materiais no perfil sensorial dos
288 queijos durante o período de maturação. O queijo tipo Minas Padrão foi escolhido como matriz
289 de aplicação para este estudo pois ele passa por períodos longos de maturação, podendo sofrer
290 modificações sensoriais através do metabolismo microbiano, bem como pela presença dos
291 materiais que compõem a parede das micropartículas durante o seu processo de
292 amadurecimento. A lista de atributos consistia em 21 atributos mais a opção “outros” em que o
293 provador era livre para identificar e expressar atributos que não continham na lista. Os atributos
294 foram: aparência: presença de casca, casca brilhante, casca amarela, casca grossa, casca
295 ressecada, casca homogênea, casca gordurosa, interior homogêneo. aroma: aroma fermentado,
296 aroma de soro de leite, aroma de qualhada, aroma suave. gosto: gosto ácido, gosto salgado,
297 gosto amargo. sabor: sabor rançoso, sabor suave, sabor equilibrado. textura: firme, cremosa e
298 borrachenta. Para realizar a análise CATA, os consumidores foram orientados a ler os atributos
299 presentes na ficha antes de iniciar a análise. Em seguida, solicitamos que experimentassem as
300 amostras e, em seguida, verificassem os atributos que, em sua avaliação, foram adequados para
301 descrever cada amostra. Não existia uma quantidade fixa de atributos a serem verificados,
302 podendo os avaliadores assinalar um ou mais, de acordo com a sua opinião em relação à amostra
303 (Varela & Ares, 2012). A fase final do teste CATA foi avaliar a aceitação da impressão global,
304 através de uma escala hedônica de nove pontos, com variação entre desgostei extremamente (1)

305 a gostei extremamente (9) e, nesta mesma ficha, foram colocados os atributos levantados para
306 o CATA, a partir de prévio grupo focal, em que consumidores do queijo proposto levantaram
307 os principais caracteres que remetem ao mesmo quando avaliado sensorialmente.

308

309 *2.14. Análise estatística*

310

311 *2.14.1. Análise de dados CATA*

312

313 Considerando a análise dos dados do CATA, a frequência de citação de cada atributo
314 foi determinada pela contagem do número de vezes que os provadores marcaram cada atributo
315 em cada amostra, chamada de matriz de contingência.

316 Aplicou-se o teste Q de Cochran para verificar diferenças significativas entre as
317 amostras para cada atributo por meio do software estatístico R versão 3.5.2. (R Core Team,
318 2019). Foi aplicada a análise de correspondência (CA) na matriz contendo a frequência de
319 citação dos atributos para identificar quais as diferenças significativas foram detectadas pelo
320 teste Q de Cochran (Meyners et al., 2013; Xia et al., 2020). Foi utilizado o pacote SensoMineR
321 (Husson et al., 2017) do software R (R Core Team, 2019).

322

323 *2.14.2. Teste de aceitação*

324

325 Para verificar se havia diferença entre as amostras ao longo do tempo, avaliamos os
326 resultados do atributo sensorial (impressão global) obtidos no teste de aceitação por meio da
327 análise de variância MANOVA (Anova multivariada) ao nível de significância de 5% ($p \leq$
328 0,05), seguido pelo teste de Tukey para comparação de médias (Souza et al., 2013). De acordo
329 com (Galmarini et al., 2017), com produtos complexos que podem ter vários atributos
330 dominantes ao mesmo tempo, a inspeção visual de curvas e a comparação de produtos pode se
331 tornar uma tarefa complicada. Nesse caso, a MANOVA é uma boa alternativa para avaliar os
332 dados uma vez que as diferenças multidimensionais podem ser resumidas sobre os atributos por
333 uma ANOVA multivariada (MANOVA).

334

335 **3. Resultados e Discussão**

336

337 *3.1. Caracterização das micropartículas*

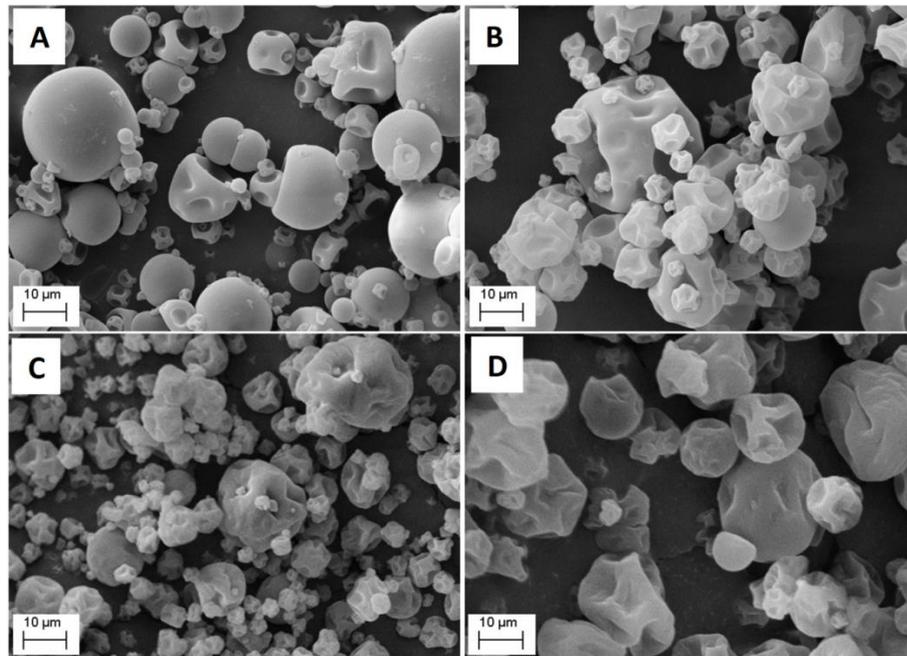
338

339 3.1.1. Morfologia da superfície das micropartículas

340

341 Observando as microscopias (Fig. 1), pode-se observar que as micropartículas
342 apresentaram formato esférico, com pequenas depressões, típicas de materiais secos por
343 pulverização, nas quais ocorre o encolhimento do material devido à rápida perda de água
344 durante os estágios iniciais de secagem (Ré, 1998). Outros autores indicam que os poros
345 provavelmente surgem de um encolhimento desigual do material durante a última fase do
346 processo de secagem (Klinkesorn et al., 2006). Não foram observadas falhas ou poros visíveis
347 na superfície das micropartículas, sendo uma característica muito importante na preservação e
348 manutenção das células probióticas. A porosidade pode afetar a estabilidade dos
349 microrganismos microencapsulados presentes no núcleo e na parede das micropartículas,
350 acarretando em maior contato com fatores externos, como o ar, temperatura, luz, pH e enzimas,
351 prejudicando a viabilidade das células probióticas.

352



353

354 **Fig. 1.** Microscopia eletrônica de varredura das micropartículas contendo *L. acidophilus* LA14
355 produzidas com diferentes concentrações de materiais de parede: isolado proteico de soro (IPS)
356 e inulina (IN). Sendo: IPS (A), IPS/IN (2:1) – (B), IPS/IN (1:1) – (C) e IPS/IN (1:2) – D, e 2%
357 de pectina em todos os tratamentos.

358

359 Morfologias esféricas semelhantes foram encontradas por vários autores usando a
360 secagem por *spray drying* como processo de microencapsulação (Carneiro et al., 2013).

361

362 3.2. Caracterização físico-química dos queijos tipo Minas Padrão

363

364 A caracterização foi feita nas amostras após a sua produção. A composição dos queijos
 365 tipo Minas Padrão em relação ao teor de gordura, cinzas, extrato seco, atividade de água e
 366 umidade não apresentaram influência significativa ($p>0,05$) pela adição das micropartículas
 367 contendo variações de isolado proteico de soro e inulina. Resultados similares foram
 368 encontrados por (Costa et al., 2019).

369

370 **Tabela 2**

371 Valores médios dos aspectos físico-químicos dos queijos tipo Minas Padrão após a fabricação
 372 (tempo zero). Teste de média de Tukey.

Características	Queijo A	Queijo B	Queijo C	Queijo D
Físico-químicas	IPS	IPS/IN (2:1)	IPS/IN (1:1)	IPS/IN (1:2)
pH	7,24 ± 0,01 ^b	7,13 ± 0,01 ^c	7,28 ± 0,01 ^a	7,26 ± 0,01 ^a
Gordura %(m/m)	17 ± 0,01 ^a	17 ± 0,02 ^a	18 ± 0,01 ^a	18 ± 0,01 ^a
Proteína %(m/m)	22,79 ± 0,05 ^a	21,72 ± 0,05 ^a	20,82 ± 0,08 ^b	20,24 ± 0,08 ^b
Cinzas %(m/m)	4,24 ± 0,02 ^a	4,25 ± 0,04 ^a	4,26 ± 0,01 ^a	4,25 ± 0,02 ^a
Ext seco %(m/m)	42,7 ± 0,93 ^a	42,77 ± 0,37 ^a	41,64 ± 0,55 ^a	42,21 ± 0,38 ^a
Aw (%)	0,974 ± 0,02 ^a	0,978 ± 0,01 ^a	0,985 ± 0,07 ^a	0,975 ± 0,02 ^a
Umidade (%)	57,30 ± 0,93 ^a	57,09 ± 0,46 ^a	58,36 ± 0,55 ^a	57,79 ± 0,38 ^a

373 Os queijos A, B, C e D, contém micropartículas contendo variações de isolado proteico de soro
 374 e inulíia, utilizados como materiais de parede na microencapsulação do inóculo *Lactobacillus*
 375 *acidophilus* LA 14.

376

377 A atividade de água não foi afetada pela adição das micropartículas ($p>0,05$),
 378 provavelmente para concentração de solutos a ao teor de umidade que influencia na atividade
 379 de água (Guinee & Fox, 2004).

380

381 3.3. Avaliação do pH do queijo tipo Minas Padrão durante a maturação

382

383 A Tabela 3 mostra os valores da análise de pH, durante o tempo de maturação em
 384 temperatura entre 12 e 14°C (0, 10, 20 e 30 dias).

385 **Tabela 3**

386 Valores médios das análises de pH feitas nos queijos tipo Minas Padrão durante o tempo de
 387 maturação (0, 10, 20 e 30 após a fabricação).

Dias de maturação	Queijo A IPS	Queijo B IPS/IN (2:1)	Queijo C IPS/IN (1:1)	Queijo D IPS/IN (1:2)
0	7,24 ± 0,01 ^b	7,13 ± 0,01 ^c	7,28 ± 0,01 ^a	7,26 ± 0,01 ^a
10	7,24 ± 0,01 ^a	7,04 ± 0,01 ^b	7,03 ± 0,03 ^b	7,04 ± 0,02 ^b
20	6,99 ± 0,01 ^b	7,01 ± 0,02 ^a	7,05 ± 0,04 ^a	6,99 ± 0,02 ^b
30	6,94 ± 0,02 ^a	6,88 ± 0,03 ^c	6,91 ± 0,05 ^b	6,85 ± 0,05 ^d

388 Os queijos A, B, C e D, foram adicionados com micropartículas contendo *L. acidophilus* LA14
 389 microencapsulado utilizando diferentes concentrações de whey protein e inulina.
 390

391 Houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os valores de pH ao longo do tempo Tabela
 392 3. Observa-se que, em todos os tratamentos houve redução do pH durante o período de
 393 maturação, proposto por 30 dias. Este perfil de pH, se mostra elevado quando comparado a
 394 outros estudos feitos por Costa et al. (2019) onde foi valores de pH entre 4,90 e 4,91. A redução
 395 dos valores de pH observados durante o armazenamento dos queijos neste estudo é um processo
 396 natural causado pela produção contínua de ácido lático e outros ácidos orgânicos pelo iniciador
 397 e pelas culturas probióticas, conforme relatado em estudos anteriores com queijos frescos Minas
 398 (Buriti et al., 2005a; Buriti et al., 2005b). No entanto, é provável que a produção de ácido lático
 399 tenha sido influenciada pela presença de inulina contida nas micropartículas adicionadas na
 400 etapa de prensagem da massa, evitando que a lactose fosse degradada em ácidos orgânicos pelos
 401 microrganismos presentes no queijo, levando a maiores valores de pH durante o período de
 402 armazenamento, bem como foi observado nos estudos de Cardarelli et al. (2008).

403 Pode-se observar que o tratamento contendo micropartículas com maior concentração
 404 de inulina apresentou pH mais elevado quando comparado aos tratamentos com menores
 405 concentrações ou ausência de inulina. Estudos feitos por Mackû et al. (2009) mostraram
 406 valores de pH semelhantes (5,79 a 5,97) ao usar pectina na elaboração de queijo processado.
 407 Os resultados das análises de proteínas apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre os
 408 tratamentos, onde os maiores valores encontrados foram nos queijos adicionados com
 409 micropartículas com maior concentração de isolado proteico de soro.

410

411 *3.4. Análises microbiológicas do queijo tipo Minas Padrão*

412

413 O queijo Minas Padrão fabricado não apresentou presença de *Salmonella sp.* O
 414 mesmoapresentou contagem de 2,98 log UFC/g para bactérias mesofílicas, 2,70 log UFC/g para
 415 coliformes totais e < 4 MPN/g para coliformes termotolerantes e em 25 g de produto, mostrando
 416 que os queijos foram fabricados apropriadamente.

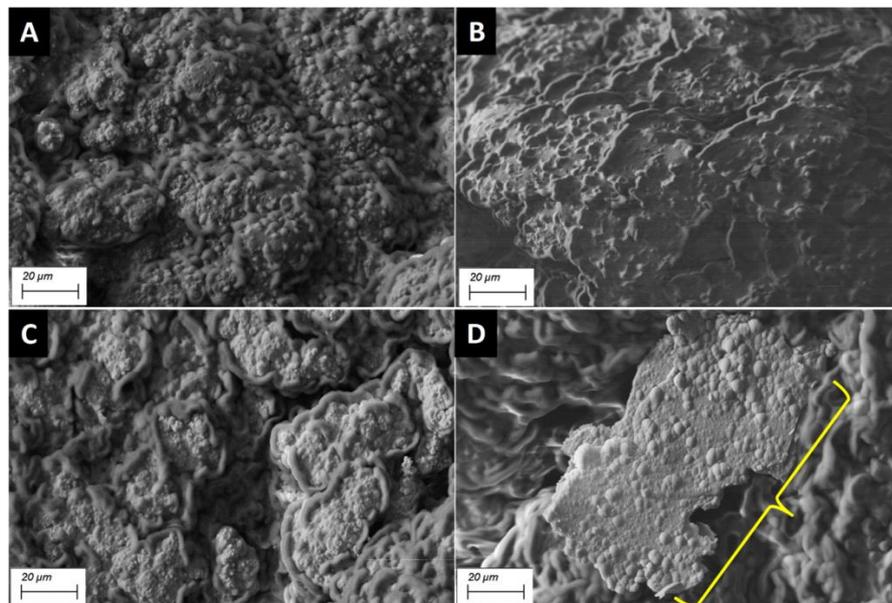
417

418 3.5. Microestrutura dos queijos tipo Minas Padrão adicionados de micropartículas 419 probióticas

420

421 O efeito da adição das micropartículas na massa do queijo é apresentado na Figura 2.
 422 Observa-se que houve menor dissolvimento das micropartículas contendo maior concentração
 423 de inulina (Fig. 2D) ao entrar em contato massa do queijo, quando comparado aos outros
 424 tratamentos. Estudos feitos por Pinto et al. (2015) atribuíram o efeito protetor conferido pela
 425 microcápsula à viabilidade de *L. lactis* R7 à baixa solubilidade da inulina demonstrada no teste
 426 de ruptura da microcápsula, que pode resultar em reidratação e liberação mais lenta das células
 427 bacterianas. Essas micrografias reforçam os resultados observados na eficiência de
 428 encapsulação, onde os maiores valores foram encontrados nos tratamentos com maior
 429 concentração de inulina. Possivelmente, a resistência da cápsula na ruptura se deve à baixa
 430 capacidade de hidrólise da inulina e sua resistência às variações de pH (Fernandes et al., 2016).

431



432

433 **Fig. 2.** Microscopia eletrônica de varredura das amostras de queijo tipo Minas Padrão
 434 adicionados de micropartículas contendo *Lactobacillus acidophilus* LA 14 produzidas com
 435 variações dos seguintes materiais de parede: Isolado proteico de soro (IPS) e inulina (IN); e
 436 pectina fixa a 2%. Queijo A: IPS (Controle); Queijo B: IPS/IN (2:1); Queijo C: IPS/IN (1:1) e
 437 Queijo D: IPS/IN (1:2).

438 Em todos os tratamentos foi observado uma textura densa, heterogenia e compacta. No
 439 entanto, não demonstra a influência do processo de maturação na textura dos queijos, pois as
 440 micrografias foram realizadas no segundo dia após a elaboração dos queijos tipo Minas Padrão.
 441 Outros estudos demonstraram que a combinação de inulina e soro de leite como materiais
 442 encapsulantes foi adequada e eficaz no processo de microencapsulação por *spray drying*, com
 443 potencial aplicação em alimentos (Rosolen et al., 2019).

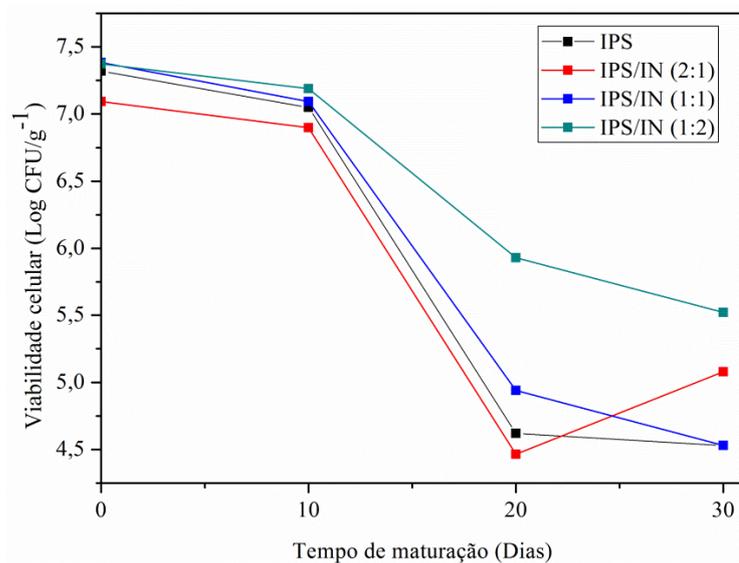
444

445 3.6. Viabilidade probiótica dos queijos tipo Minas Padrão durante o período de maturação

446

447 O processo em escala piloto para produção, maturação e resfriamento do queijo tipo
 448 Minas Padrão foram usadas culturas secas por *spray drying* contendo *L. acidophilus* de 8 e
 449 9 Log UFC.g⁻¹. Durante o período total de maturação, foi observada redução de 4 Log UFC.g⁻¹,
 450 levando em consideração a quantidade inicial contida nas micropartículas. Na Figura 3 pode-se
 451 observar que após o 10º dia de maturação todos os queijos mantiveram o número de *L.*
 452 *acidophilus* acima de (10⁶ UFC.g⁻¹) valor acima do sugerido para conferir benefícios
 453 probióticos (Castro et al., 2015).

454



455

456 **Fig. 3.** Viabilidade celular de *Lactobacillus acidophilus* microencapsulado em queijos tipo
 457 Minas Padrão durante o período de maturação de 30 dias a 14°C.

458

459 O número de células viáveis de *L. acidophilus* nos queijos adicionados das
 460 micropartículas com maior concentração de inulina IPS/IN (1:2) foi significativamente maior
 461 que o tratamento sem inulina, sendo detectado após 20 dias de maturação 10⁶ UFC.g, mostrando

462 que a inulina exerceu efeito protetor sobre as bactérias. Essa característica da inulina também
463 foi demonstrada para outra cepa de *Lactobacillus* (KAPLAN; HUTKINS, 2000), *Lactobacillus*
464 *casei* (DONKOR et al., 2007) e *Lactobacillus paracasei* (MAKRAS; VAN ACKER; DE
465 VUYST, 2005). Em queijos contendo inulina, o número médio de *L. plantarum* foi maior do
466 que naqueles sem inulina durante todo o período de armazenamento de 45 dias
467 (MODZELEWSKA-KAPITULA; KLCBUKOWSKA; KORNACKI, 2007). SALEM et al.,
468 (2007) estudaram o efeito de 1% de inulina no crescimento e estabilidade de *Lactobacillus*
469 *reuteri* B-14171, *Lactobacillus johnsonii* B-2178 e *Lactobacillus salivarius* B-1950 com
470 culturas de iogurte em queijo Labneh durante 30 dias de armazenamento a 5°C, observaram
471 que a viabilidade desses probióticos em tratamentos contendo inulina foi superior à do controle
472 (sem inulina). Os resultados do presente estudo demonstraram que houve efeito protetor entre
473 a inulina e a bactéria probiótica durante o tempo de maturação do queijo tipo Minas Padrão. No
474 entanto, após os 20 dias de maturação, a contagem de células viáveis foi reduzida para valores
475 inferiores a 10⁶ UFC/g em todos os tratamentos.

476

477 3.7. Análise sensorial dos queijos tipo Minas Padrão

478

479 3.7.1. Análise CATA

480

481 Podemos observar na (Tabela 4) a frequência de citação dos atributos para cada uma das
482 quatro amostras analisadas e o valor de p do teste Q de Cochran ($p \leq 0,05$) durante os trinta dias
483 de maturação do queijo tipo Minas Padrão. Segundo os resultados do teste Q de Cochran
484 (Tabela 4), observamos que 23 dos 41 atributos listados no CATA mostraram diferenças
485 significativas entre as amostras: apresenta casca, casca amarelada, casca ressecada, casca
486 homogênea, casca gordurosa, interior brilhante, interior homogêneo, aspecto quebradiço,
487 aparência seca, fermentado, soro de leite, suave, gosto ácido, gosto salgado, gosto amargo,
488 sabor rançoso, sabor suave, sabor equilibrado, quebradiça, firme, cremosa, borrachenta,
489 esfarelada e compacta. Outro aspecto importante, foi o aumento no desenvolvimento de novos
490 atributos identificados pelos consumidores ao longo do processo de maturação do queijo, onde
491 foi identificado 12 atributos significativos após 20 dias de maturação, 15 atributos após vinte
492 dias e 21 atributos significativos após 30 dias de maturação. Os outros atributos contribuíram
493 significativamente para a discriminação das amostras.

494 **Tabela 4**

495 Tabela de contingência de 4 amostras ao longo do período de maturação e 41 atributos e p valor
 496 do teste Q de Cochran para os atributos.

Atributos	P valor		
	10 dias	20 dias	30 dias
Apresenta casca	1,28E⁻⁰⁵	0,03060	4,22E⁻⁰⁶
Casca brilhante	0,16163 ^{ns}	0,66417 ^{ns}	0,00015
Casca amarelada	0,00060	0,02485	1,74E⁻⁰⁷
Casca grossa	0,45179 ^{ns}	0,30544 ^{ns}	1,11E⁻⁰⁷
Casca ressecada	0,01515	0,02929	1,15E⁻⁰⁸
Casca homogênea	0,27246 ^{ns}	0,33594 ^{ns}	0,03390
Casca gordurosa	0,26875 ^{ns}	0,71408 ^{ns}	0,01361
Interior brilhante	0,06662 ^{ns}	0,03437	0,26720 ^{ns}
Interior branco	0,08781 ^{ns}	0,77785 ^{ns}	0,25804 ^{ns}
Interior homogêneo	0,25287 ^{ns}	0,04333	0,00944
Aspecto quebradiço	0,02184	0,04589	0,36622 ^{ns}
Opaco	0,50820 ^{ns}	0,47195 ^{ns}	0,60214 ^{ns}
Presença de furos	0,10699 ^{ns}	0,46632 ^{ns}	0,56658 ^{ns}
Aparência seca	0,42074 ^{ns}	0,00067	0,33396 ^{ns}
Manteigado	0,36081 ^{ns}	0,22939 ^{ns}	0,09535 ^{ns}
Fermentado	0,76230 ^{ns}	0,36879 _{ns}	0,00142
Soro de leite	0,26989 ^{ns}	0,26387 _{ns}	0,00852
Coalhada	0,24827 ^{ns}	0,27730 _{ns}	3,63E⁻⁰⁵
Leite	0,22804 ^{ns}	0,33159 _{ns}	0,23988 ^{ns}
Adocicado	0,58564 ^{ns}	0,93870 _{ns}	0,20110 ^{ns}
Suave	0,53282 ^{ns}	0,02384	6,93E⁻⁰⁸
Gosto ácido	0,51718 ^{ns}	0,05117 _{ns}	0,00678
Gosto salgado	0,00042	0,00012	0,00280
Gosto adocicado	0,12647 ^{ns}	0,66981 _{ns}	0,63376 ^{ns}
Gosto amargo	0,05590 ^{ns}	1,43E⁻⁰⁶	0,02696
Sabor fermentado	0,26581 ^{ns}	0,73053 _{ns}	0,22452 ^{ns}
Sabor amanteigado	0,98007 ^{ns}	0,05177 _{ns}	0,05677 ^{ns}
Sabor rançoso	0,57240 ^{ns}	0,19789 _{ns}	0,02302
Sabor leite	0,88916 ^{ns}	0,41897 _{ns}	0,87850 ^{ns}
Sabor suave	0,00837	0,02738	0,03898
Sabor equilibrado	0,20354 ^{ns}	0,12251 ^{ns}	0,04549

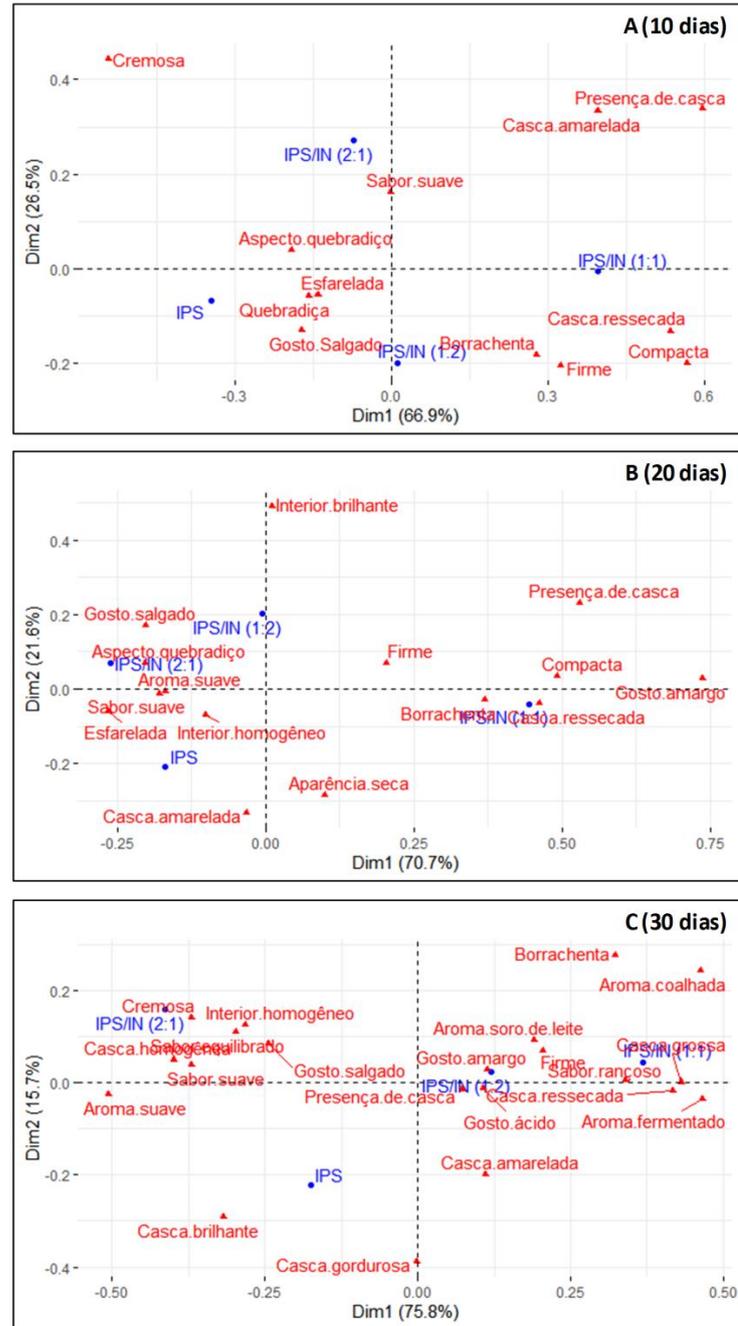
Sabor queijo Minas	0,31254 ^{ns}	0,58042 ^{ns}	0,36850 ^{ns}
Quebradiça	0,00358	0,15193 ^{ns}	0,41748 ^{ns}
Firme	0,00019	0,02738	0,00036
Cremosa	0,00116	0,07792 ^{ns}	0,04755
Borrachenta	0,02385	0,01491	0,01207
Esfarelada	0,00912	2,74E⁻⁰⁵	0,08735 ^{ns}
Lisa	0,60654 ^{ns}	0,26549 ^{ns}	0,75085 ^{ns}
Macia	0,41595 ^{ns}	0,16997 ^{ns}	0,28648 ^{ns}
Compacta	0,02496	0,00495	0,23945 ^{ns}
Consistente	0,82542 ^{ns}	0,22281 ^{ns}	0,56681 ^{ns}

497 Em negrito estão os resultados com 5% de probabilidade.

498 ns: não significativo.

499 A partir dos atributos significativos realizados pela AC, apresentados na Figura 4,
500 mostram que a soma da primeira e a segunda dimensões representam aproximadamente 93,4%,
501 92,3% e 91,5% da variância dos dados, para os 10, 20 e 30 dias de maturação, respectivamente.

502



503

504 **Fig. 4.** Representação das amostras de queijos na primeira e segunda dimensão da análise de
 505 correspondência realizada na tabela de contingência CATA. Queijo A: IPS; Queijo B: IPS/IN
 506 (2:1); Queijo C: IPS/IN (1:1); Queijo D: IPS/IN (1:2). IPS: isolado proteico de soro; IN: inulina.

507

508 Observando os gráficos (Fig. 4), podemos observar que o queijo A com 10 dias de
 509 maturação, foi caracterizado principalmente pelos atributos de textura, como quebradiça,
 510 esfarelada, e pelos atributos que contribuíram para a distância do queijo D que possui maior
 511 quantidade de inulina, onde foi descrito com uma textura firme, borrachenta e compacta. A
 512 textura mais firme do queijo A se deve ao maior teor de proteínas existente na massa, assim

513 como foi demonstrado nos estudos feitos por Koca & Metin (2004). Em relação aos atributos
514 de sabor, o queijo A apresentou sabor salgado, enquanto os queijos B e C contendo maiores
515 concentrações de inulina foram descritos por apresentar sabor suave. Estudos realizados por
516 Cardarelli et al. (2008), relataram que a inulina certamente conferiu características favoráveis
517 para o sabor e textura do queijo petit-suisse.

518 As características sensoriais dos queijos mudaram após de 20 dias de maturação, onde
519 o queijo A, sofreu mudanças na sua aparência e no sabor, descrito desta vez, com formação de
520 casca amarelada e sabor suave. A mudança no sabor do queijo A pode ter ocorrido devido a
521 mudança de pH mediante o metabolismo probiótico durante o período de armazenamento. O
522 queijo C apresentou casca ressecada e o queijo D que possui maior quantidade de inulina, não
523 apresentou formação de casca.

524 Após 30 dias de maturação, o queijo A foi caracterizado principalmente pelo atributo de
525 aparência, como casca brilhante e presença de casca, que levaram a se diferenciar do queijo B,
526 que apresentou uma casca homogênea, e dos queijos C e D, que apresentaram casca grossa
527 (Juan et al., 2013) estudaram o efeito da adição de inulina nas propriedades sensoriais do queijo
528 fresco com baixo teor de gordura. Eles declararam que os queijos produzidos com inulina
529 apresentaram os menores valores de luminosidade e amarelecimento, embora essas diferenças
530 de cores não tenham sido detectadas pelos participantes do painel. As partículas de inulina
531 também podem atuar como centros de dispersão da luz e aumentar a opacidade dos queijos
532 (Juan et al., 2013). Em relação aos atributos de textura, os queijos contendo diferentes
533 proporções de inulina (B, C e D), apresentaram texturas distintas, sendo o queijo B
534 caracterizado como cremoso, enquanto os queijos C e D foram descritos como firmes. Foi
535 observado que a viscosidade dos produtos aumenta com o aumento dos níveis de inulina (Akin
536 et al., 2007), e que a interação dos hidrocolóides com as proteínas do leite pode resultar em
537 melhoria ou deterioração das propriedades texturais (Donkor et al., 2007). Isto pode explicar a
538 diferença entre a textura cremosa do queijo B e a textura firme dos queijos C e D. Outro fator
539 que contribuiu para uma textura mais firme é o baixo teor de gordura no leite utilizado para
540 produção dos queijos tipo Minas Padrão, uma vez que a gordura é responsável por romper a
541 matriz proteica e desempenhando o papel de lubrificante para proporcionar suavidade e uma
542 textura mais macia (Romeih et al., 2002). O atributo aroma se distinguiu entre os queijos o A,
543 C e D descritos por terem um aroma suave, coalhada e soro de leite, respectivamente. O sabor
544 também foi caracterizado de forma diferente entre os queijos com inulina (B, C e D), sendo o
545 queijo B caracterizado com um sabor suave e gosto salgado, enquanto os queijos C e D
546 apresentaram sabor rançoso e gosto amargo.

547 3.7.2. *Teste de aceitação*

548

549 3.7.2.1 *ANOVA multivariada (MANOVA)*

550

551 As diferenças entre as variações dos atributos das quatro amostras de queijo tipo Minas
 552 Padrão ao longo do tempo foram investigadas através da aplicação de uma MANOVA, onde
 553 foi identificado que houve variação nos atributos aparência, aroma, sabor, impressão global e
 554 intenção de compra durante os 30 dias de maturação do queijo tipo Minas Padrão, sendo a
 555 textura o único atributo que não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) ao longo do tempo
 556 (Tabela 5). Embora não tenha sido percebido mudança na textura ao longo do tempo, no geral,
 557 a dureza dos análogos de queijo processado aumentou significativamente ($p < 0,05$) com o
 558 aumento nas concentrações de proteínas (Wydrych et al., 2015). Segundo Hennelly et al.
 559 (2005), a diminuição da dureza depende de níveis mais altos de umidade para contribuir para a
 560 hidratação das proteínas e, conseqüentemente, a plasticização da matriz. Em nossos estudos,
 561 não houve diferença significativa nos teores de umidade, o que pode explicar a semelhança no
 562 atributo textura ao longo do tempo.

563

564 **Tabela 5**

565 Resultado da ANOVA multivariada (MANOVA).

Atributo	Aparência	Aroma	Sabor	Textura	IG	IC
Pr (>F)	0,0002	0,0036	0,0140	0,5662	0,0001	0,0030
Lambda	0,8991	0,9226	0,9340	0,9753	0,8968	0,9214
Valor F	3,59	2,75	2,32	0,85	3,71	2,8

566 Em negrito estão os resultados com 5% de probabilidade.

567 ns: não significativo.

568

569 Desta forma, foram realizadas MANOVAS em tempos separados para identificar em
 570 qual tempo de maturação os atributos variaram (Tabela 6). Foi identificado que após 10 dias de
 571 maturação todos os tratamentos foram descritos como iguais. No entanto, após 20 dias de
 572 maturação alguns atributos foram diferentes em sabor, impressão global e intenção de compra.
 573 Ao longo de 30 dias de maturação os tratamentos foram diferentes em sabor, aroma, aparência,
 574 intenção de compra e impressão global.

575

576 **Tabela 6**
577 Post-hoc da MANOVA.

10 Dias					
Atributo	Aparência	Aroma	Sabor	IG	IC
P valor	0,6011 ^{ns}	0,5366 ^{ns}	0,5201 ^{ns}	0,6537 ^{ns}	0,8745 ^{ns}
20 Dias					
Atributo	Aparência	Aroma	Sabor	IG	IC
P valor	0,1265 ^{ns}	0,2527 ^{ns}	0,0299	0,0047	0,0079
30 Dias					
Atributo	Aparência	Aroma	Sabor	IG	IC
P valor	0,0009	0,0001	0,0175	0,0001	0,0045

578 Em negrito estão os resultados com 5% de probabilidade.
579 ns: não significativo.

580

581 As diferenças nos atributos de aceitação foram observadas após 20 dias de maturação e
582 intensificados após 30 dias de maturação. A atividade bioquímica, bem como o metabolismo
583 probiótico podem exercer forte influência no perfil sensorial dos queijos durante o processo de
584 maturação. A glicólise, lipólise e proteólise de caseína são os processos bioquímicos mais
585 complexos que ocorrem durante a fabricação e amadurecimento do queijo. Os compostos
586 voláteis e não voláteis que ocorrem como resultado de todos esses processos bioquímicos
587 contribuem para o sabor ou sabor e aroma do queijo (Fox et al., 2017).

588 A proteólise é a mais complexa e, do ponto de vista da maioria dos pesquisadores, a
589 mais importante (Mcsweeney, 2004), contribuindo para o amadurecimento do queijo através de
590 uma contribuição direta ao sabor através da formação de peptídeos e AA e alterando também a
591 textura do queijo devido à quebra da rede de proteínas (Sousa et al., 2001). A lipólise no queijo
592 é devida à presença de enzimas lipolíticas que cortam a ligação éster entre um ácido graxo e a
593 porção glicerol de um triacilglicerol, produzindo ácidos graxos livres (AGL) (Salles et al.,
594 2002). Os AGL, especialmente os ácidos graxos livres de cadeia curta e média, não apenas
595 contribuem diretamente para o sabor do queijo, mas também são precursores da produção de
596 compostos aromatizantes, como metil cetonas, álcoois secundários, ésteres, alcanos e lactonas
597 (Tekin & Güler, 2019). É provável que o baixo teor de gordura encontrado em todos os
598 tratamentos (17 a 18%) tenha afetado a percepção do aroma nos estados iniciais de maturação
599 do queijo tipo Minas Padrão. Esta característica de intensificação do sabor e aroma durante o

600 processo de maturação do queijo pode ser observada na (Tabela 6), onde foi descrito pelos
601 provadores uma quantidade maior de atributos após 30 dias de maturação.

602 As bactérias probióticas podem ser outro fator que pode afetar a estrutura da matriz de
603 queijo devido à sua contribuição para a atividade de proteólise ao longo do tempo de
604 armazenamento, mas a extensão desse efeito varia de acordo com a cepa utilizada (Cruz et al.,
605 2009).

606 Foi aplicado o teste Tukey (Tabela 7) para identificar quais tratamentos variaram entre
607 si, onde suas diferenças foram identificadas anteriormente nas MANOVAS (Tabela 6).

608 Podemos observar que o tratamento com maior concentração de inulina IPS/IN (1:2) foi
609 descrito com maior quantidade atributos significativos ($p < 0,05\%$) como: sabor, impressão
610 global e intenção de compra durante os primeiros 20 dias de maturação. Isto se deve a maior
611 quantidade de células viáveis de *L. acidophilus* LA 14 (96.12%) retidas nas micropartículas,
612 bem como nos resultados de viabilidade de células viáveis (acima de 10^6 UFC) melhorando o
613 metabolismo microbiano através de uma simbiose que combina pré e probióticos. Desta forma,
614 foi observado um ligeiro decréscimo no pH neste tratamento (de 7.26 para 6.99%), após 20 dias
615 de maturação. Resultados semelhantes de diminuição de pH foram encontrados por Rodrigues
616 et al. (2012) na produção de queijos probióticos durante o período de amadurecimento.
617 Frutooligossacarídeos (FOS) e inulina estão entre os compostos prebióticos mais utilizados
618 (Buriti et al., 2007; Cardarelli et al., 2007) na formulação de alimentos simbióticos, bem como
619 as probióticos do gênero *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são os mais comuns usados em
620 produtos lácteos funcionais (Gomes & Malcata, 1999; Oliveira et al., 2009).

621 Podemos observar na Tabela 7 que, além dos atributos descritos após 20 dias de
622 maturação, novos atributos significativos ($p < 0,05$) foram descritos após 30 dias de maturação
623 como: aparência e aroma, onde as médias mais altas de aceitação foram encontradas nos
624 tratamentos contendo micropartículas com inulina IPS/IN (2:1) e IPS/IN (1:2), demonstrando
625 que o seu efeito simbiótico proporcionou maior percepção dos atributos sensoriais ao longo do
626 tempo. Um estudo demonstrou que a viabilidade probiótica da cepa presente em uma matriz
627 alimentar pode ser mantida (ou até melhorada) por combinação com ingredientes prebióticos
628 (Capela et al., 2006; Gibson et al., 2004). Decorrente da atividade metabólica durante a
629 simbiose, foi observado outra diminuição no pH nestes tratamentos citados acima (6.88 e
630 6.85%) respectivamente.

631 **Tabela 7**

632 Indicadores da diferença de comportamento dos atributos de aceitação entre as amostras de
 633 queijo tipo Minas Padrão contendo micropartículas com diferentes concentrações de inulina e
 634 isolado proteico de soro.

Atributos/20 dias	Tratamentos			
	IPS	IPS/IN (2:1)	IPS/IN (1:1)	IPS/IN (1:2)
Sabor	6,55 ^{ab}	6,72 ^{ab}	6,01 ^b	6,95 ^a
Impressão global	6,79 ^{ab}	6,78 ^{ab}	6,21 ^b	7,08 ^a
Intenção de compra	3,60 ^{ab}	3,45 ^{ab}	3,23 ^b	3,78 ^a

Atributos/30 dias	Tratamentos			
	IPS	IPS/IN (2:1)	IPS/IN (1:1)	IPS/IN (1:2)
Aparência	6,81 ^{ab}	7,28 ^a	5,78 ^c	6,23 ^{bc}
Aroma	6,97 ^a	6,92 ^a	5,73 ^b	6,54 ^a
Sabor	6,26 ^{ab}	6,47 ^a	5,53 ^b	6,58 ^a
Impressão global	6,74 ^a	6,90 ^a	5,74 ^b	6,51 ^a
Intenção de compra	3,40 ^{ab}	3,67 ^a	2,97 ^b	3,53 ^a

635 As médias seguidas pela mesma letra não diferiram significativamente a 5% de probabilidade
 636 pelo teste de Tukey.

637

638 Segundo Su et al. (2007), *L. casei* e *B. lactis* são capazes de crescer em meio basal
 639 suplementado com FOS ou Inulina. Como percebido anteriormente com o efeito de redução do
 640 pH, a presença de compostos prebióticos pode ter influenciado uma produção maior de ácido
 641 láctico; um efeito acelerador da inulina, assim como foi observado nos estudos realizados por
 642 (Rodrigues et al., 2011).

643

644 **4. Conclusões**

645

646 Os resultados deste estudo indicam que as misturas poliméricas de isolado proteico de
 647 soro e inulina foram efetivas na retenção do *L. acidophilus LA14*, onde a presença de inulina
 648 refletiu em um efeito simbiótico melhorando a viabilidade microbiana e maximizando a
 649 percepção sensorial ao longo de tempo de amadurecimento do queijo tipo Minas Padrão. Além
 650 disso, os dados mostraram que a adição de *Lactobacillus acidophilus LA14* como cultura
 651 probiótica não afetou negativamente as características bioquímicas e o perfil sensorial dos

652 queijos, embora sejam necessários mais testes hedônicos para avaliar como os consumidores
653 percebem a adição da cepa *L. acidophilus LA14* usada em queijos maturados probióticos.

654

655 Referências

656

657 Akin, M. B., Akin, M. S., & Kirmaci, Z. (2007). Effects of inulin and sugar levels on the
658 viability of yogurt and probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in
659 probiotic ice-cream. *Food Chemistry*, *104*(1), 93–99.
660 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.11.030>.

661 Amiri, S., Mokarram, R. R., Khiabani, M. S., Bari, M. R., & Khaledabad, M. A. (2019).
662 Exopolysaccharides production by *Lactobacillus acidophilus* LA5 and *Bifidobacterium*
663 *animalis* subsp. *lactis* BB12: Optimization of fermentation variables and characterization of
664 structure and bioactivities. *International Journal of Biological Macromolecules*, *123*, 752–765.
665 <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.084>.

666 Arepally, D., & Goswami, T. K. (2019). Effect of inlet air temperature and gum Arabic
667 concentration on encapsulation of probiotics by spray drying. *LWT - Food Science and*
668 *Technology*, *99*, 583–593. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.10.022>.

669 Brasil. (2006). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº
670 68, de 12 de dezembro de 2006. *Métodos Analíticos oficiais físico-químicos, para controle de*
671 *leite e produtos lácteos*. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 12 dez. 2006. Seção 1, p. 8.

672 Buriti, F. C. A., Cardarelli, H. R., Filisetti, T. M. C. C., & Saad, S. M. I. (2007). Synbiotic
673 potential of fresh cream cheese supplemented with inulin and *Lactobacillus paracasei* in co-
674 culture with *Streptococcus thermophilus*. *Food Chemistry*, *104*(4), 1605–1610.
675 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.001>.

676 Buriti, F. C. A., Rocha, J. S., & Saad, S. M. I. (2005a). Incorporation of *Lactobacillus*
677 *acidophilus* in Minas fresh cheese and its implications for textural and sensorial properties
678 during storage. *International Dairy Journal*, *15*(12), 1279–1288.
679 <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.12.011>.

680 Buriti, F. C. A., Rocha, J. S., Assis, E. G., & Saad, S. M. I. (2005b). Probiotic potential of Minas
681 fresh cheese prepared with the addition of *Lactobacillus paracasei*. *LWT - Food Science and*
682 *Technology*, *38*(2), 173–180. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.05.012>.

683 Capela, P., Hay, T. K. C., & Shah, N. P. (2006). Effect of cryoprotectants, prebiotics and
684 microencapsulation on survival of probiotic organisms in yoghurt and freeze-dried yoghurt.
685 *Food Research International*, *39*(2), 203–211. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.07.007>.

- 686 Cardarelli, H. R., Buriti, F. C. A., Castro, I. A., & Saad, S. M. I. (2008). Inulin and oligofructose
687 improve sensory quality and increase the probiotic viable count in potentially synbiotic petit-
688 suisse cheese. *LWT - Food Science and Technology*, *41*(6), 1037–1046.
689 <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.07.001>.
- 690 Cardarelli, R., Saad, S. M. I., Gibson, G. R., & Vulevic, J. (2007). Functional petit-suisse
691 cheese: Measure of the prebiotic effect. *Food Microbiology*, *13*(5-6), 200–207.
692 <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2007.05.003>.
- 693 Carneiro, H. C. F., Tonon, R. V., Grosso, C. R. F., & Hubinger, M. D. (2013). Encapsulation
694 efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using
695 different combinations of wall materials. *Journal of Food Engineering*, *115*(4), 443–451.
696 <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.03.033>.
- 697 Castro, J. M., Tornadijo, M. E., Fresno, J. M., & Sandoval, H. (2015). Biocheese: A food
698 probiotic carrier. *BioMed Research International*, *2015*, 1-12.
699 <https://doi.org/10.1155/2015/723056>.
- 700 Costa, R. G. B., Junior, A. C., da Cruz, A. G., Sobral, D., Júnior, L. C. G. C., de Paula, J. C. J.,
701 Moreira, G. M. M., & Teodoro, V. A. M. (2019). Effect of partial replacement of sodium
702 chloride with potassium chloride on the characteristics of Minas Padrão cheese. *International*
703 *Dairy Journal*, *91*, 48–54. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.12.002>.
- 704 Cruz, A. G., Buriti, F. C. A., de Souza, C. H. B., Faria, J. A. F., & Saad, S. M. I. (2009).
705 Probiotic cheese: health benefits, technological and stability aspects. *Trends in Food Science &*
706 *Technology*, *20*(8), 344–354. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.05.001>.
- 707 Da Silva, T. M., de Deus, C., Fonseca, B. S., Lopes, E. J., Cichoski, A. J., Esmerino, E. A., da
708 Silva, C. de B., Muller, E. I., Flores, E. M. M., & Menezes, C. R. (2019). The effect of
709 enzymatic crosslinking on the viability of probiotic bacteria (*Lactobacillus acidophilus*)
710 encapsulated by complex coacervation. *Food Research International*, *125*, 108577.
711 <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108577>.
- 712 De Castro-Cislaghi, F. P., Silva, C dos R, E., Fritzen-Freire, C. B., Lorenz, J. G., & Sant'Anna,
713 E. S. (2015). *Bifidobacterium* Bb-12 microencapsulated by spray drying with whey: Survival
714 under simulated gastrointestinal conditions, tolerance to NaCl, and viability during storage.
715 *Journal of Food Engineering*, *113*(2), 186–193.
716 <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.06.006>.
- 717 Demers-Mathieu, V., St-Gelais, D., Audy, J., Laurin, E., & Fliss, I. (2016). Effect of the low-
718 fat Cheddar cheese manufacturing process on the viability of *Bifidobacterium animalis* subsp.
719 *lactis*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei/casei*, and *Lactobacillus plantarum*

- 720 isolates. *Journal of Functional Foods*, 24, 327–337. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.04.025>.
- 721 Donkor, O. N., Nilmini, S. L. I., Stolic, P., Vasiljevic, T., & Shah, N. P. (2007). Survival and
722 activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. *International*
723 *Dairy Journal*, 17(6), 657–665. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2006.08.006>.
- 724 Farias, F. M., Nascimento, J. S., da Silva Santos, O. C., & Bastos, M. do C. de F. (2019). Study
725 of the effectiveness of staphylococci in biopreservation of Minas fresh (Frescal) cheese with
726 a reduced sodium content. *International Journal of Food Microbiology*, 304, 19–31.
727 <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.05.014>.
- 728 Felicio, T. L., Esmerino, E. A., Vidal, V. A. S., Cappato, L. P., Garcia, R. K. A., Cavalcanti, R.
729 N., Freitas, M. Q., Junior, C. A. C., Padilha, M. C., Silva, M. C., Raices, R. S. L., Arellano, D.
730 B., Bollini, H. M. A., Pollonio, M. A. R., & Cruz, A. G. (2016). Physico-chemical changes
731 during storage and sensory acceptance of low sodium probiotic Minas cheese added with
732 arginine. *Food Chemistry*, 196, 628–637. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.102>.
- 733 Fernandes, R. V. de B., Botrel, D. A., Silva, E. K., Borges, S. V., de Oliveira, C. R., Yoshida,
734 M. I., Feitosa, J. P. de A., & Paula, R. C. M. (2016). Cashew gum and inulin: New alternative
735 for ginger essential oil microencapsulation. *Carbohydrate Polymers*, 153(5), 133–142.
736 <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.07.096>.
- 737 Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., Cogan, T. M., & Guinee, T. P. (2017). *Fundamentals of*
738 *Cheese Science*. (2nd ed.). Aspen Publishers.
- 739 Fritzen-Freire, C. B., Prudêncio, E. S., Amboni, R. D. M. C., Pinto, S. S., Negrão-Murakami,
740 A. N., & Murakami, F. S. (2012). Microencapsulation of bifidobacteria by spray drying in the
741 presence of prebiotics. *Food Research International*, 45(1), 306–312. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.09.020>.
- 743 Galmarini, M. V., Visalli, M., & Schlich, P. (2017). Advances in representation and analysis of
744 mono and multi-intake Temporal Dominance of Sensations data. *Food Quality and Preference*,
745 56, 247–255. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2016.01.011>.
- 746 Gibson, G. R., Probert, H. M., Loo, J. V., Rastall, R. A., & Roberfroid, M. B. (2004). Dietary
747 modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition*
748 *Research Reviews*, 17(2), 259–275. <https://doi.org/10.1079/NRR200479>.
- 749 Gomes, A. M. P., & Malcata, F. X. (1999). *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*:
750 biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as
751 probiotics. *Trends in Food Science & Technology*, 10(4-5), 139-157.
752 [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(99\)00033-3](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(99)00033-3).
- 753 Global Trade. Retrieved from <https://www.globaltrademag.com/global-cheese-market-hit->

- 754 record-highs-but-is-to-lose-momentum-against-the-pandemic/. Accessed September 14, 2020.
- 755 Granato, D., Nazzaro, F., Pimentel, T. C., Esmerino, E., & Cruzb, A. G. (2019). *Probiotic food*
756 *development: An updated review based on technological advancement*. Elsevier.
- 757 Guinee, T. P., Carić, M., & Kaláb, M. (2004). *Pasteurized processed cheese and*
758 *substitute/imitation cheese products*. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, 2, 349-
759 394. [https://doi.org/10.1016/S1874-558X\(04\)80052-6](https://doi.org/10.1016/S1874-558X(04)80052-6).
- 760 Guinee, T. P., & Fox, P. F. (2004). Salt in cheese: physical, chemical and biological aspects.
761 In: *Cheese: Chemistry, physics and microbiology*. Elsevier Ltd.
- 762 Hennelly, P. J., Dunne, P. G., O'Sullivan, M., & O'Riordan, D. (2005). Increasing the moisture
763 content of imitation cheese: effects on texture, rheology and microstructure. *European Food*
764 *Research and Technology*, 220, 415–420. <https://doi.org/10.1007/s00217-004-1097-9>.
- 765 Husson, F.; Le, S., & Cadoret, M. (2017). *SensMineR: Sensory Data Analysis*. R package
766 version 1.23. Retrieved from <https://CRAN.R-project.org/package=SensMineR>.
- 767 Ilha, E. C., da Silva, T., Lorenz, J. G., Rocha, G. de O., & Sant'Anna, E. S. (2015). *Lactobacillus*
768 *paracasei* isolated from grape sourdough: acid, bile, salt, and heat tolerance after spray drying
769 with skim milk and cheese whey. *European Food Research and Technology*, 240(5), 977–984.
770 <https://doi.org/10.1007/s00217-014-2402-x>.
- 771 Jafari, S. M., Assadpoor, E., He, Y., & Bhandari, B. (2008). Encapsulation efficiency of food
772 flavours and oils during spray drying. *Drying Technology*, 26(7), 816–835.
773 <https://doi.org/10.1080/07373930802135972>.
- 774 Juan, B., Zamora, A., Quintana, F., Guamis, B., & Trujillo, A. J. (2013). Effect of inulin
775 addition on the sensorial properties of reduced-fat fresh cheese. *International Journal of Dairy*
776 *Technology*, 66(4), 478–483. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12057>.
- 777 Kaplan, H., & Hutkins, R. W. (2000). Fermentation of fructooligosaccharides by lactic acid
778 bacteria and bifidobacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(6), 2682–2684.
779 <https://doi.org/10.1128/aem.66.6.2682-2684.2000>.
- 780 Klinkesorn, U., Sophanodora, P., Chinachoti, P., Decker, E. A., & McClements, D. J. (2006).
781 Characterization of spray-dried tuna oil emulsified in two-layered interfacial membranes
782 prepared using electrostatic layer-by-layer deposition. *Food Research International*, 39(4),
783 449–457. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.09.008>.
- 784 Koca, N., & Metin, M. (2004). Textural, melting and sensory properties of low-fat fresh kashar
785 cheeses produced by using fat replacers. *International Dairy Journal*, 14(4), 365–373.
786 <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2003.08.006>.
- 787 Macfie, H. J., Bratchell, N., Greenhoff, K., & Vallis, L. V. (1989). Designs to balance the effect

- 788 of order of presentation and first-order carry-over effects in hall testes. *Journal of Sensory*
789 *Studies*, 4(2), 129–148. <https://doi.org/10.1111/j.1745-459X.1989.tb00463.x>.
- 790 Macků, I., Buňka, F., Voldánová, B., & Pavlínek, V. (2009). Effect of addition of selected solid
791 cosolutes on viscoelastic properties of model processed cheese containing pectin. *Food*
792 *Hydrocolloids*, 23(8), 2078–2084. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.03.020>.
- 793 Makras, L., Van Acker, G., & De Vuyst, L. (2005). *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*
794 8700:2 degrades inulin-type fructans exhibiting different degrees of polymerization. *Applied*
795 *and Environmental Microbiology*, 71(11), 6531–6537.
796 <https://doi.org/10.1128/AEM.71.11.6531-6537.2005>.
- 797 Matera, J., Luna, A. S., Batista, D. B., Pimentel, T. C., Moraes, J., Kamimura, B. A., Ferreira,
798 M. V. S., Silva, H. L. A., Mathias, S. P., Esmerino, E. A., Freitas, M. Q., Raices, R. S. L.,
799 Quitério, S. L., Sant'Ana, A. S., Silva, M. C., & Cruza, A. G. (2018). Brazilian cheeses: A
800 survey covering physicochemical characteristics, mineral content, fatty acid profile and volatile
801 compounds. *Food Research International*, 108, 18–26.
802 <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.03.014>.
- 803 Mcsweeney, P. L. H (2004). *Biochemistry of cheese ripening: introduction and overview* (3rd
804 ed.). London.
- 805 Meira, Q. G. S., Magnani, M., Júnior, F. C. M., Queiroga, R. de C. R. do E., Madruga, M. S.,
806 Gullón, B., Gomes, A. M. P., Pintado, M. M. E., & de Souza, E. L. (2015). Effects of added
807 *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* probiotics on the quality characteristics
808 of goat ricotta and their survival under simulated gastrointestinal conditions. *Food Research*
809 *International*, 76, 828–838. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.08.002>.
- 810 Meyners, M., Castura, J. C., & Carr, B. T. (2013). Existing and new approaches for the analysis
811 of CATA data. *Food Quality and Preference*, 30(2), 309–319.
812 <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2013.06.010>.
- 813 Modzelewska-Kapitula, M., Klcbukowska, L., & Kornacki, K. (2007). Influence of inulin and
814 potentially probiotic *Lactobacillus plantarum* strain on microbiological quality and sensory
815 properties of soft cheese. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 57(2), 143–146.
- 816 Nunes, G. L., Etchepare, M. de A., Cichoski, A. J., Zepka, L. Q., Lopes, E. J., Barin, J. S.,
817 Flores, E. M. de M., da Silva, C. de B., & de Menezes, C. R. (2018). Inulin, hi-maize, and
818 trehalose as thermal protectants for increasing viability of *Lactobacillus acidophilus*
819 encapsulated by spray drying. *LWT - Food Science and Technology*, 89, 128–133.
820 <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.10.032>.
- 821 Oliveira, R. P. de S., Perego, P., Converti, A., & de Oliveira, M. N. (2009). Growth and

- 822 acidification performance of probiotics in pure culture and co-culture with *Streptococcus*
823 *thermophilus*: The effect of inulin. *LWT - Food Science and Technology*, 42(5), 1015–1021.
824 <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.01.002>.
- 825 Pimentel, T. C., Antunes, A. E. C., Zacarchenco, P. B., Cortez, M. A. S., Bogsan, C. S. B.,
826 Oliveira, M. N., Esmerino, E. A., Silva, M. C., & Cruz, A. G. (2017). *Brazilian yogurt-like*
827 *products*. Elsevier Inc.
- 828 Pinto, S. S., Fritzen-Freire, C. B., Benedetti, S., Murakami, F. S., Petrus, J. C., C., Prudêncio,
829 E. S., & Amboni, R. D. M. C. (2015). Potential use of whey concentrate and prebiotics as carrier
830 agents to protect *Bifidobacterium*-BB-12 microencapsulated by spray drying. *Food Research*
831 *International*, 67, 400–408. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.11.038>.
- 832 R Core Team (2019). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation
833 for Statistical Computing, Vienna, Austria. Retrieved from <https://www.R-project.org/>.
- 834 Rao, R. K., & Samak, G. (2013). Protection and restitution of gut barrier by probiotics:
835 Nutritional and clinical implications. *Current Nutrition & Food Science*, 9(2), 99–107.
836 <https://doi.org/10.2174/1573401311309020004>.
- 837 Ré, M. I. (1998). Microencapsulation by spray drying. *Drying Technology*, 16(6), 1195–1236.
838 <https://doi.org/10.1080/07373939808917460>.
- 839 Ribeiro, S. C., Stanton, C., Yang, B., Ross, R. P., & Silva, C. C. G. (2018). Conjugated linoleic
840 acid production and probiotic assessment of *Lactobacillus plantarum* isolated from Pico cheese.
841 *LWT - Food Science and Technology*, 90, 403–411. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.065>.
- 842 Rodrigues, D., Rocha-Santos, T. A. P., Pereira, C. I., Gomes, A. M., Malcata, F. X., & Freitas,
843 A. C. (2011). The potential effect of FOS and inulin upon probiotic bacterium performance in
844 curdled milk matrices. *LWT - Food Science and Technology*, 44(1), 100–108.
845 <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.05.021>.
- 846 Rodrigues, D., Rocha-Santos, T. A. P., Gomes, A. M., Goodfellow, B. J., & Freitas, A. C.
847 (2012). Lipolysis in probiotic and synbiotic cheese: The influence of probiotic bacteria,
848 prebiotic compounds and ripening time on free fatty acid profiles. *Food Chemistry*, 131(4),
849 1414–1421. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.010>.
- 850 Romeih, E. A., Michaelidou, A., Biliaderis, C. G., & Zerfiridis, G. K. (2002). Low-fat white-
851 brined cheese made from bovine milk and two commercial fat mimetics: Chemical, physical
852 and sensory attributes. *International Dairy Journal*, 12(6), 525–540.
853 [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(02\)00043-2](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(02)00043-2).
- 854 Rosolen, M. D., Bordini, F. W., Oliveira, P. D., Conceição, F. R., Pohndor, R. S., Fiorentini, A.
855 M., da Silva, W. P., & Pieniz, S. (2019). Symbiotic microencapsulation of *Lactococcus lactis*

- 856 subsp. *lactis* R7 using whey and inulin by spray drying. *LWT – Food Science and*
857 *Technology*, 115, 108411. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108411>.
- 858 Salem, M. M. E., El-Gawad, M. A. M. A., Hassan, F. A. M., & Effat, B. (2007). The use of
859 synbiotics for production of functional low fat Labneh. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*,
860 57(2), 151–159.
- 861 Salles, C., Sommerer, N., Septier, C., Issanchou, S., Chabanet, C., Garem, A., & Goat, A. J.-L.
862 L. Q. (2002). Cheese flavor: Sensory evaluation of branched-chain fatty acids and small
863 peptides. *Journal of Food Science*, 67(2), 835-841. [https://doi.org/10.1111/j.1365-](https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb10686.x)
864 2621.2002.tb10686.x.
- 865 Sarkar, S., Sur, A., Sarkar, K., Majhi, R., Basu, S., Chatterjee, K., & Sikder, B. (2016).
866 Probiotics: A way of value addition in functional food. *International Journal of Food Science,*
867 *Nutrition and Dietetics*, 5(4), 290–293. <https://doi.org/10.19070/2326-3350-1600052>.
- 868 Shori, A. B. (2015). The potential applications of probiotics on dairy and non-dairy foods
869 focusing on viability during storage. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 4(4), 423–
870 431. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2015.09.010>.
- 871 Silva, H. L. A., Balthazar, C. F., Esmerino, E. A., Neto, R. P. C., Rocha, R. S., Moraes, J.,
872 Cavalcanti, R. N., Franco, R. M., Tavares, M. I. B., Santos, J. S., Granato, D., Costa, R. G. B.,
873 Freitas, M. Q., Silva, M. C., Raices, R. S. L., Ranadheera, C. S., Nazzaro, F., Mortazavian, A.
874 M., & Cruz, A. G. (2018). Partial substitution of NaCl by KCl and addition of flavor enhancers
875 on probiotic Prato cheese: A study covering manufacturing, ripening and storage time. *Food*
876 *Chemistry*, 248, 192–200. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.12.064>.
- 877 Silva, N., Junqueira, V. C. A., & Silveira, N. F. de A. (2017). *Manual de métodos de análise*
878 *microbiológica de alimentos e água* (5. ed). Blucher.
- 879 Silva, T. M., de Deus, C., Fonseca, B. S., Lopes, E. J., Cichoski, A. J., Esmerino, E. A., da
880 Silva, C. de B., Muller, E. I., Flores, E. M. M., & de Menezes, C. R. (2019). The effect of
881 enzymatic crosslinking on the viability of probiotic bacteria (*Lactobacillus acidophilus*)
882 encapsulated by complex coacervation. *Food Research International* 125, 108577.
883 <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108577>.
- 884 Sousa, M. J., Ardö, Y., & McSweeney, P. L. H. M. (2001). Advances in the study of proteolysis
885 during cheese ripening. *International Dairy Journal*, 11(4-7), 327–345.
886 [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00062-0](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00062-0).
- 887 Souza, V. R. de., Pereira, P. A. P., Pinheiro, A. C. M., Bolini, H. M. A., Borges, S. V., &
888 Queiroz, F. (2013). Analysis of various sweeteners in low-sugar mixed fruit jam: equivalent
889 sweetness, time-intensity analysis and acceptance test. *International Journal of Food Science*

- 890 *and Technology*, 48(7), 1541–1548. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12123>.
- 891 Speranza, B., Campaniello, D., Monacis, N., Bevilacqua, A., Sinigaglia, M., & Corbo, M. R.
892 (2018). Functional cream cheese supplemented with *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*
893 DSM 10140 and *Lactobacillus reuteri* DSM 20016 and prebiotics. *Food Microbiology*, 72, 16–
894 22. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.11.001>.
- 895 Su, P., Henriksson, A., & Mitchell, H. (2007). Selected prebiotics support the growth of
896 probiotic mono-cultures in vitro. *Anaerobe*, 13(3-4), 134–139.
897 <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2007.04.007>.
- 898 Tekin, A., & Güler, Z. (2019). Glycolysis, lipolysis and proteolysis in raw sheep milk Tulum
899 cheese during production and ripening: Effect of ripening materials. *Food Chemistry*, 286, 160–
900 169. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.190>.
- 901 Trivedi, D., Bennett, R. J., Hemar, Y., Reid, D. C. W., Lee, S. K., & Illingworth, D. (2008).
902 Effect of different starches on rheological and microstructural properties of (I) model processed
903 cheese. *International Journal of Food Science & Technology*, 43(12), 2191–2196.
904 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2008.01851.x>.
- 905 Varela, P., & Ares, G. (2012). Sensory profiling, the blurred line between sensory and consumer
906 science. A review of novel methods for product characterization. *Food Research International*,
907 48(2), 893–908. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.06.037>.
- 908 Vivek, K., Mishra, S., & Pradhan, R. C. (2020). Characterization of spray dried probiotic
909 Sohiong fruit powder with *Lactobacillus plantarum*. *LWT - Food Science and Technology*, 117,
910 108699. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108699>.
- 911 Wydrych, J., Gawron, A., & Jeli, T. (2015). The effect of fat replacement by inulin on the
912 physicochemical properties and microstructure of acid casein processed cheese analogues with
913 added whey protein polymers ski. *Food Hydrocolloids*, 44, 1-11.
914 <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.08.022>.
- 915 Xia, Y., Song, J., Lee, P., Shen, H., Hou, J., Yang, J., Gao, B., & Zhong, F. (2020). Impact of
916 consumption frequency on generations of sensory product profiles using CATA questions:
917 Case studies with two drink categories. *Food Research International*, 137.
918 <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109378>.

CONCLUSÃO GERAL

919

920

921 As micropartículas contendo maior quantidade de inulina IPS/IN (1:2) como material
922 de parede apresentaram maior eficiência de encapsulação, viabilidade durante o
923 armazenamento e resistência as condições gastrointestinais simuladas. Este estudo mostrou que
924 as propriedades prebióticas da inulina influenciaram positivamente na preservação das células
925 viáveis durante o processo de maturação do queijo tipo Minas Padrão, aumentando desta forma
926 a produção de compostos voláteis responsáveis pelo sabor e aroma, além de mudanças na
927 textura durante o processo de maturação, sendo tais mudanças facilmente percebidas após
928 aplicação de testes sensoriais descritivos não convencionais que não necessitam de provadores
929 treinados, possibilitando maior eficiência na avaliação dos produtos. Além do mais, ficou
930 evidenciado que as formulações contendo misturas de isolado proteico de soro leite e inulina
931 na microencapsulação do *Lactobacillus acidophilus* para elaboração de queijo artesanal com
932 até 30 dias de maturação é forma viável e barata para se obter um alimento funcional e com
933 características sensoriais únicas, abrindo um amplo campo de pesquisa com foco na elaboração
934 de micropartículas probióticas especializadas na acentuação de aromas, sabores e textura de
935 queijos artesanais sem comprometer o processo tecnológico artesanal já utilizado pela indústria
936 de alimentos.