

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**CAUÊ ANDRÉ MACEDO LOPES**

**ELABORAÇÃO DE IOGURTE UTILIZANDO BACTÉRIAS ÁCIDO-  
LÁTICAS ENCAPSULADAS EM MATRIZ DE ALGINATO, PECTINA E  
CLORETO DE CÁLCIO**

**PONTA GROSSA**

**2022**

**CAUÊ ANDRÉ MACEDO LOPES**

**ELABORAÇÃO DE IOGURTE UTILIZANDO BACTÉRIAS ÁCIDO-LÁTICAS  
ENCAPSULADAS EM MATRIZ DE ALGINATO, PECTINA E CLORETO DE  
CÁLCIO**

**Preparation of yogurt using lactic acid bacteria encapsulated in alginate, pectin  
and calcium chloride matrix**

Trabalho de conclusão de curso de graduação  
apresentado como requisito para obtenção do título  
de Bacharel em Engenharia de Bioprocessos e  
Biotecnologia da Universidade Tecnológica Federal  
do Paraná (UTFPR).

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Sabrina Ávila Rodrigues

**PONTA GROSSA**

**2022**



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es). Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

**CAUÊ ANDRÉ MACEDO LOPES**

**ELABORAÇÃO DE IOGURTE UTILIZANDO BACTÉRIAS ÁCIDO-LÁTICAS  
ENCAPSULADAS EM MATRIZ DE ALGINATO, PECTINA E CLORETO DE  
CÁLCIO**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação  
apresentado como requisito para obtenção do título de  
Bacharel em Engenharia de Bioprocessos e  
Biotecnologia da Universidade Tecnológica Federal do  
Paraná (UTFPR).

Data de aprovação: 15/junho/2022

---

Sabrina Ávila Rodrigues

Doutorado

Universidade Tecnológica Federal do Paraná

---

Juliana Vitoria Messias Bittencourt

Doutorado

Universidade Tecnológica Federal do Paraná

---

Saihonara Pereira

Licenciatura em Ciências Biológicas

Universidade Estadual de Ponta Grossa

**PONTA GROSSA**

**2022**

## RESUMO

O iogurte é um dos produtos da fermentação láctica do leite que tem seu surgimento a milhares de anos e que ao longo do tempo vários avanços tem sido feitos em relação a melhorias em seu processo produtivo e nas suas características sensoriais. O presente trabalho tem como objetivo elaborar um iogurte utilizando-se de bactérias ácido lácticas encapsuladas em alginato de cálcio, pectina e cloreto de cálcio e analisar as suas características físico-químicas, também foi utilizado corante alimentício para analisar o escape de cor das cápsulas para o iogurte. Para isso foram elaboradas duas composições diferentes de iogurte feitas em duplicata variando a quantidade de cápsulas utilizadas, e para haver a possibilidade de comparação de parâmetros de fermentação também foram elaborado dois iogurtes com as células não encapsuladas seguindo a concentração de células dos iogurtes com células encapsuladas, para que seja possível uma comparação entre os iogurtes elaborados foram realizadas análises de sólidos solúveis, pH, acidez titulável e cor. Com a técnica utilizada foi possível elaborar cápsulas com diâmetro de 3,053 mm e desvio padrão de 0,550, a fermentação dos iogurtes utilizando as células encapsuladas possuíram um tempo de fermentação de 8,5 horas até o fim da fermentação comparado às 6,5 horas dos iogurtes com as células não encapsuladas, os iogurtes obtiveram uma concentração de sólidos solúveis medidas entre 6 e 8 ° Brix e acidez titulável entre 0,64 e 0,73 % de ácido láctico, já na análise de cor foi observado que o corante utilizado nas cápsulas foi dissipado para o iogurte.

Palavras-chave: iogurte; encapsulação; fermentação láctica; probióticos.

## ABSTRACT

Yogurt is one of the products of lactic fermentation of milk that has its origins thousands of years ago and over time several advances have been made in relation to improvements in its production process and in its sensory characteristics. The present work aims to create a yogurt using lactic acid bacteria encapsulated in calcium alginate, pectin and calcium chloride and to analyze its physicochemical characteristics, food coloring was also used to analyze the color leakage from the capsules to the yogurt. For this, two different yogurt compositions were made in duplicate, varying the amount of capsules used, and to have the possibility of comparing fermentation parameters, two yogurts with non-encapsulated cells were also prepared following the concentration of cells of the yogurts with encapsulated bacteria, in order to make it possible to compare the yogurts created, soluble solids, pH, titratable acidity and color analyzes were carried out. With the technique used it was possible to elaborate capsules with a diameter of 3.053 mm and a standard deviation of 0.550, the fermentation of the yogurts using the encapsulated cells had a fermentation time of 8.5 hours to reach the end of the fermentation compared to 6.5 hours for yogurts with the non-encapsulated cells, the yogurts obtained a concentration of soluble solids measured between 6 and 8 ° Brix and titratable acidity between 0.64 and 0.73 % of lactic acid, in the color analysis it was observed that the dye used in the capsules was dissipated into the yogurts.

Keywords: yogurt; encapsulation; fermentation; probiotics.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1 - Fluxograma do processo de produção de iogurtes .....</b>	<b>12</b>
<b>Figura 2 - Vias metabólicas de carboidratos em bactérias de ácido láctico.....</b>	<b>16</b>
<b>Figura 3 - Formação do gel de alginato de cálcio por engaiolamento .....</b>	<b>19</b>
<b>Fotografia 1 - Erlenmeyer com as cápsulas sendo agitadas em agitador magnético .....</b>	<b>21</b>
<b>Fotografia 2 - Realização de análise de cor de uma amostra em espectrofotômetro.....</b>	<b>24</b>
<b>Fotografia 3 - Cápsulas após lavagem com água destilada .....</b>	<b>25</b>
<b>Fotografia 4 - Formato das cápsulas produzidas .....</b>	<b>26</b>
<b>Fotografia 5 - Coloração inicial do iogurte encapsulado na esquerda e coloração final do iogurte encapsulado na direita.....</b>	<b>27</b>
<b>Gráfico 1 - Variação dos valores de pH em relação ao tempo .....</b>	<b>28</b>
<b>Fotografia 6 - Coloração final das amostras 1 e 2.....</b>	<b>32</b>
<b>Fotografia 7 - Coloração final das amostras 3, 4, 5 e 6.....</b>	<b>32</b>

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Formulação das cápsulas .....	22
Tabela 2 - Formulação das amostras .....	23
Tabela 3 - Diâmetro das cápsulas .....	26
Tabela 4 - Variação de valores de ° Brix em relação ao tempo .....	30
Tabela 5 - Valores finais de acidez titulável .....	31
Tabela 6 - Valores médios de L*, a* e b* obtidos .....	31

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>8</b>
1.1	Objetivos .....	9
1.2	Objetivos Específicos .....	9
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>10</b>
2.1	Iogurte .....	10
2.2	Processo Fermentativo Do Iogurte .....	111
2.3	Leite .....	133
2.4	Bactérias Ácido Láticas .....	166
2.5	Encapsulação .....	188
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>20</b>
3.1	Local De Pesquisa .....	20
3.2	Materiais .....	20
3.3	Métodos.....	20
3.3.1	Preparo da solução de alginato e pectina e da solução de cloreto de cálcio ..	20
3.3.2	Ativação das bactérias lácticas .....	20
3.3.3	Preparo das cápsulas.....	211
3.3.4	Fermentação do Iogurte .....	222
3.3.5	Análises físicas e físico-químicas .....	233
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>255</b>
4.1	Cápsulas .....	255
4.2	Análises.....	277
4.2.1	Análise de pH .....	277
4.2.2	Análise de sólidos solúveis.....	299
4.2.3	Análise de acidez titulável .....	30
4.2.4	Análise de cor.....	311
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>333</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>344</b>



## 1 INTRODUÇÃO

Uma boa nutrição e acesso a uma dieta balanceada é segundo a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), essencial para o desenvolvimento de crianças e da proteção contra doenças na vida adulta, sendo também reconhecidos como um pré-requisito para a redução de pobreza e desenvolvimento social e econômico (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2013).

Além de uma dieta regulada, a inclusão de alimentos funcionais na alimentação auxilia na saúde das pessoas, segundo Arai (1996, p. 10) foi em 1984 que surgiu no Japão o conceito de “alimentos que possuem funções terciárias como a prevenção de doenças modulando os sistemas imunológico, endócrino, nervoso, circulatório e digestivo”, podendo ser uma direção para a solução dos problemas que viriam do envelhecimento da população. O consumo de alimentos funcionais vem junto de uma nova percepção dos consumidores, os quais buscam alimentos que promovam bem-estar, melhorem a saúde e reduzam o risco de doenças e não apenas a visão de alimentos como uma questão de sobrevivência e satisfação (ROBERFROID, 2000).

Grande parte dos produtos lácteos incluindo os produtos fermentados podem ser considerados como alimentos funcionais, sendo boas fontes de cálcio, proteínas e aminoácidos de cadeia ramificada e vitamina D, fatores esses que podem estar relacionados com uma redução no risco de obesidade (WANG, WU, ZHANG, 2016).

Segundo Lomer, Parkes e Sanderson (2008) outro benefício dos leites fermentados como os iogurtes é que devido às bactérias ácido-láticas realizarem a hidrólise da lactose resultando em glicose e galactose, estes se tornam alimentos com maior facilidade de consumo para aqueles com intolerância à lactose, além de existirem sinais de que a consistência semissólida dos iogurtes desacelera o trânsito gastrointestinal, desenvolvendo assim menos sintomas relacionados a intolerância à lactose (LABAYEN *et al.*, 2001).

As principais bactérias ácido-láticas que são consideradas microrganismos probióticos pertencem aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2006), no caso das culturas tradicionais do iogurte, as bactérias *Streptococcus salivarius* subsp. *Thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* obtiveram resultados

promissores como culturas probióticas, por exemplo no estudo de Tejada-Simon *et al.* (1999) que demonstrou que elas geraram uma mucosa intestinal e produziram Imunoglobulina A (IgA) utilizada contra microrganismos patógenos. Porém há muito debate se tais microrganismos podem ser consideradas como probióticos, sendo que eles não cumprem os critérios que os caracterizariam como tais, devido a serem muito sensíveis às condições do sistema gastrointestinal humano e não sobrevivendo dentro do intestino com uma população elevada para conseguir colonizá-lo e trazer os benefícios esperados de uma cultura probiótica (GRANATO, 2010).

Uma das técnicas sendo estudadas para fazer com que estes microrganismos sejam capazes de ultrapassar as condições do nosso sistema gastrointestinal é a encapsulação, que criaria um revestimento em volta das células propiciando maior longevidade a elas considerando que ocorre uma limitação da penetrabilidade das condições hostis do estômago e intestino delgado protegendo as bactérias (CAVALHEIRO *et al.*, 2015).

## **1.1 Objetivos**

Elaborar iogurte utilizando-se de bactérias ácido lácticas encapsuladas em matriz de alginato, pectina e cloreto de cálcio com subsequente comparação com iogurte produzido com os microrganismos não encapsulados.

## **1.2 Objetivos Específicos**

1. Elaborar cápsulas com as bactérias lácticas.
2. Realizar a fermentação láctica do iogurte utilizando as bactérias encapsuladas e não encapsuladas.
3. Analisar pH e sólidos solúveis durante a fermentação e após analisar cor e acidez titulável.
4. Comparar a partir de análise de dados as diferenças nas características físicas e físico-químicas das duas formulações.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Iogurte

Produtos fermentados de leite tem se mostrado alimentos com efeitos positivos para o nosso sistema digestivo, com tanto a lactose e as proteínas presentes originalmente no leite de forma mais acessível após a fermentação, após a fermentação a lactose se encontra em menor quantidade por conta de ter sido convertida em ácido láctico pelos microrganismos fermentadores e as proteínas sendo consumidas para o crescimento destas populações, a produção do ácido láctico pelas bactérias é o que confere o sabor azedo conhecido dos leites fermentados (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2013).

De acordo com Cruz *et al.* (2017) o iogurte é o produto lácteo fermentado de maior consumo pelo mundo, com projeção de que o mercado global de iogurtes lácteos e não lácteos supere 100 bilhões de dólares em 2022 segundo relatório da Innova Market Insights reportado pela Dairy Industries (2021).

No Brasil os iogurtes são regulamentados pela Instrução Normativa nº46 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), de 23 de outubro de 2007 que o define como:

O produto incluído na definição 2.1. cuja fermentação se realiza com cultivos protosimbóticos de *Streptococcus salivarius* subsp. *Thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, aos quais podem acompanhar, de forma complementar, outras bactérias ácido-lácticas que, por sua atividade, contribuem para a determinação das características do produto final (BRASIL, 2007, p. 1).

Portanto fica clara a necessidade da presença das duas espécies de microrganismos clássicas do iogurte, que tem uma origem antiga e começa a ter seus efeitos na saúde estudados pelo microbiologista russo Ilya Ilyich Mechnikov, que em conjunto com Paul Ehrlich recebe o Nobel de Fisiologia ou Medicina em 1908 por suas contribuições ao campo da imunologia apresentando seus estudos sobre os efeitos benéficos dos leites fermentados à saúde humana devido às bactérias lácticas presentes neles (ZALKIND, 2001).

O iogurte possui origens indeterminadas, sendo que a maior parte dos estudiosos considera possuir origem no Oriente Médio, provavelmente na Turquia, e teve sua grande popularização na Bulgária, tendo sua primeira produção industrial em

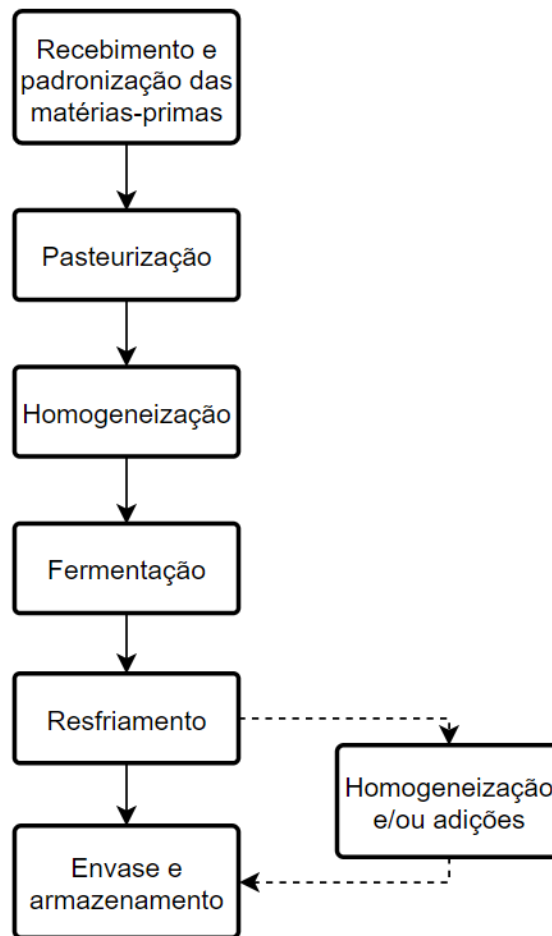
1919 em Barcelona, na Espanha, onde Isaac Carasso cria sua primeira fábrica de iogurtes. De acordo com Cruz *et al.* (2017) na época ainda era feita a coagulação do leite pelos microrganismos já presentes nele, ocorrendo então a fermentação de forma natural, diferente do processo fermentativo utilizado atualmente que utiliza a matéria-prima livre de outros microrganismos para ser inoculada com a cultura láctica do iogurte assim iniciando a fermentação.

Comparado com outros produtos derivados do leite, o iogurte é muito desejado por conta das suas características sensoriais, como a consistência de gel suave e viscoso com aroma e sabor delicados, também é conhecido por motivos de saúde sendo que existem inúmeras opções de iogurtes com adição de probióticos no mercado e outro fator da sua popularidade é serem um produto com maior digestibilidade em relação ao leite (CRUZ *et al.*, 2017). Com um crescimento em seu consumo no Brasil como reportado pela Abras (2022) de 5,7 bilhões de reais de vendas de iogurtes no período de outubro de 2018 até setembro de 2019 para 6,6 bilhões de vendas no período de outubro de 2020 até setembro de 2021, o iogurte é um produto com alta praticidade para o seu consumo, podendo ser consumido nas diversas horas do dia e pelos mais diversos públicos, tanto infantil quanto adulto (DA SILVA; PANDOLFI, 2020).

Seguindo em expansão desde os anos 2000, o setor de produtos lácteos cresce tanto em produção quanto no consumo (DELFINO, 2014), pesquisa realizada por Siqueira e Rocha (2020) mostrou que 89% dos consumidores brasileiros tem o hábito de comprar iogurte e que durante a pandemia de Covid-19 durante o ano de 2020 houve um aumento no seu consumo de 6%.

## **2.2 Processo Fermentativo Do iogurte**

O processo de produção de iogurtes pode ser observado de acordo com o fluxograma contido na Figura 1:

**Figura 1 - Fluxograma do processo de produção de iogurtes**

**Fonte: Autoria própria (2021)**

O processo industrial de produção do iogurte é iniciado pelo recebimento do leite e sua padronização em relação à teores de proteínas e gordura (SOUZA, 2022) sendo suplementado ou não com leite em pó para aumentar o extrato seco desengordurado e açúcar para melhoria no sabor e consistência, outras adições feitas na indústria são a de estabilizantes e espessantes, sendo os estabilizantes usados para favorecer e manter as características físicas das emulsões e dispersões, e os espessantes usados para aumentar a viscosidade do iogurte (NASCIMENTO; FONTANA, 2012), ocorrendo as adições o leite é então misturado para passar pelo processo de pasteurização.

A pasteurização é a etapa onde ocorre a eliminação da microbiota do leite, seja ela patogênica ou não, para então favorecer o crescimento da cultura do iogurte diminuindo a competição por alimento. Outras funções do tratamento térmico é a

desnaturação das proteínas do soro do leite, reduzindo assim o coágulo da caseína e em função disso a sinérese, ocorre também a redução do teor de oxigênio que estimula o crescimento inicial dos microrganismos e também tem uma função de aumentar a viscosidade, devido a precipitação da lactoalbumina e lactoglobulina (PEREIRA *et al.*, 2020). Após esse aquecimento é feito um resfriamento até cerca de 40 a 45 °C, temperatura ótima para o crescimento em conjunto das bactérias lácticas do iogurte (ESKIN; SHAHIDI, 2015).

Então é realizada a inoculação com a cultura láctica em uma proporção de 1:1 para o ocorrer o crescimento de forma simbiótica, de forma que no final a proporção continue a mesma (NASCIMENTO; FONTANA, 2012). A fermentação deve ocorrer até que o pH do iogurte fique de 4,6 a 4,7 que é o ponto isoelétrico da caseína, ocorrendo então até o final da fermentação a formação do gel característico do iogurte (CRUZ *et al.*, 2017). Esse processo dura geralmente por volta de 4,5 horas, porém pode demorar até 8 horas (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2013).

Após a fermentação é realizado um abaixamento de temperatura para diminuir a atividade metabólica das bactérias lácticas, controlando assim a acidez final, sendo um processo feito de forma vagarosa para deixar ocorrer a produção de diacetil, composto que proporciona sabor ao produto final e também evitar sinérese (CRUZ *et al.*, 2017).

Com o produto já finalizado, antes dele ser envasado ele pode ser adicionado de polpas, pedaços de frutas, mel, etc. e também pode ser batido caso o fabricante queira um produto com uma consistência mais fluida. Por fim ele será envasado e armazenado em temperaturas inferiores a 10 °C, mantendo assim suas características sensoriais e físico-químicas, para ser enviado à mercados onde encontrará o consumidor final (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2013).

### **2.3 Leite**

O leite é a principal matéria-prima do iogurte, sendo composto por água, proteínas, lipídios, lactose, sais, vitaminas e enzimas. Considerado um alimento de alto valor biológico precisamente por sua composição rica em vários nutrientes. A água é o componente majoritário sendo aproximadamente 87% da razão mássica do

leite. Tais constituintes estão dispostos no leite em três maneiras, dissolvidas no soro aquoso, em suspensão coloidal e em emulsão conforme sua afinidade com a fase aquosa (CRUZ *et al.*, 2016).

As razões em que cada componente é encontrada no leite é muito variável, por existirem diferenças entre cada espécie animal que é explorada, sendo as principais exploradas para extração de leite as bovinas, bubalinas, caprinas e ovinas e dentre cada espécie existem ainda fatores como “genética, ambiente, idade do animal, estágio da lactação, manejo de ordenha, sanidade e nutrição” (CRUZ *et al.*, 2016, p. 234) que são difíceis de serem controlados e oferecerão características diferentes ao produto final.

As proteínas são macromoléculas orgânicas nitrogenadas constituídas por cadeias de aminoácidos, que no leite são divididos entre as caseínas, as proteínas do soro e o nitrogênio não proteico, as proteínas chegam a representar cerca de 30-35 g/L do leite (SOLÉ *et al.*, 2012). As caseínas representam 80% das proteínas do leite e são divididas entre  $\alpha_{S1}$ -caseína,  $\alpha_{S2}$ -caseína,  $\beta$ -caseína e  $\kappa$ -caseína e tem a função de carregar principalmente cálcio e fosfato para o recém-nascido (DE KRUIF *et al.*, 2012). Já as proteínas do soro são um grupo mais diversificado tratando-se principalmente de  $\beta$ -lactoglobulina e  $\alpha$ -lactalbumina e tem a função de transferir imunidade passiva e promover o desenvolvimento e maturação dos tecidos epiteliais do sistema gastrointestinal do recém-nascido (SGARBIERI, 2004).

A concentração da gordura do leite pode variar muito de acordo com a espécie e raça do animal, sendo encontradas diferenças de até 50% entre espécies diferentes. A gordura do leite é composta principalmente por triacilgliceróis, sendo esses cerca de 98% do total de gordura. O leite industrializado precisa passar por uma homogeneização para evitar o que é chamado de cremificação, fazendo com que os glóbulos de gordura se rompam em glóbulos menores, ocasionando uma diferenciação entre o leite homogeneizado e o leite cru em características como sua maior viscosidade, uma cor mais branca, maior propensão a formar espuma e o aumento da tensão superficial. Após o processo de homogeneização do leite é necessário também realizar um tratamento térmico por conta de a degradação lipolítica ser mais rápida quando a área superficial dos glóbulos de gordura aumenta (DE FARIA, 2021).

A lactose é o principal carboidrato do leite, servindo de fonte energética para os recém-nascidos e é um dissacarídeo composto por glicose e galactose. Existem indivíduos que são incapazes de digerir a lactose devido a deficiência ou ausência da enzima lactase no intestino, enzima essa que age apenas na lactose hidrolisando-a em seus componentes primários (FERRARI; MEIRA; SOARES, 2022). A fermentação da lactose para obter ácido láctico é o que proporciona a variedade de produtos lácteos como os queijos e leites fermentados como o iogurte (CRUZ *et al.*, 2016).

Os constituintes em menor proporção do leite são os sais minerais, sendo eles íons ligados entre si ou com proteínas e que são importantes para o desenvolvimento dos recém-nascidos, como por exemplo no crescimento do esqueleto desses indivíduos. Os principais sais do leite são principalmente o cloro, fósforo, potássio, sódio, cálcio e magnésio (LEIRA *et al.*, 2018).

O leite é uma excelente fonte de vitaminas, sendo elas compostos orgânicos que os seres humanos não conseguem sintetizar torna o leite e seus derivados alimentos procurados para suplementar a carência dessas substâncias (SIQUEIRA, 2019). As vitaminas presentes no leite são em sua maioria aquelas que são reconhecidas como essenciais para o ser humano, dentre elas a vitamina A, vitamina D, vitamina K, ácido pantotênico, riboflavina, biotina e a vitamina B<sub>12</sub> (CRUZ *et al.*, 2016).

Existem algumas enzimas endógenas no leite como lipases, fosfatases, plasminas, catalases e lactoperoxidases que em sua maioria não tem impactos positivos nas características do leite e, portanto, são inativadas durante o tratamento térmico realizado no processamento do leite e algumas dessas enzimas ainda podem ser usadas como bons indicadores da efetividade do tratamento térmico, sendo que elas têm uma resistência térmica maior que a dos microrganismos patogênicos mais resistentes encontrados no leite (WILIŃSKA *et al.*, 2007).

Segundo Cruz *et al.* (2017, p. 173) é de extrema importância que este leite seja “produzido nas melhores condições sanitárias possíveis” principalmente quando for destinado para a produção de leites fermentados, prezando pela ausência de microrganismos patogênicos e substâncias como antibióticos utilizados para a prevenção de doenças nos animais e dos sanitizantes usados na limpeza dos equipamentos de ordenha e dos tanques de armazenamento, além da presença de leucócitos originados de animais com doenças como a mastite, outras preocupações



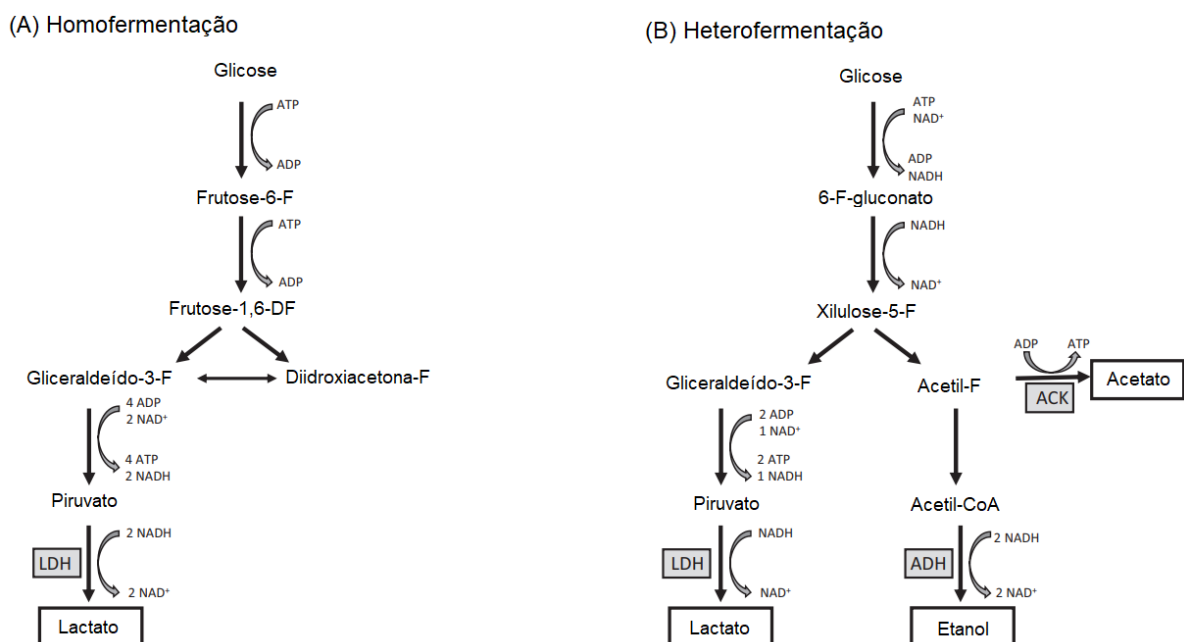
são a rancificação do leite e o armazenamento prolongado propiciando alterações nas suas características. A atenção com a presença de antibióticos no leite destinado a produção de leites fermentados se deve principalmente da inibição que eles causam nas culturas starters prejudicando então o processo de fermentação do leite.

## 2.4 Bactérias Ácido Lácticas

As bactérias ácido-láticas são bactérias Gram-positivas, podendo ter formato de cocos ou bacilos, não formam esporos nem catalases e sua principal característica é que realizam a fermentação láctica, consumindo hexoses como a lactose para produção de ácido láctico (ESKIN; SHAHIDI, 2015) e os gêneros mais relevantes são os *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* e os *Lactococcus* (GIAZZI *et al.*, 2020).

Podem ser divididas entre as homofermentativas e as heterofermentativas, sendo as homofermentativas aquelas que produzem apenas o ácido láctico, e as heterofermentativas além de produzirem o ácido láctico também produzem outros compostos como o dióxido de carbono ou o diacetil, que oferecem atributos de sabor e aroma para os produtos fermentados com tais bactérias, sendo então almejadas pela indústria de produtos lácteos por tais características (GIAZZI *et al.*, 2020), a Figura 2 mostra as vias metabólicas tomadas pelas duas classes de bactérias.

**Figura 2 - Vias metabólicas de carboidratos em bactérias de ácido láctico**



Fonte: Suissa *et al.* (2021)

Também podem ser divididas entre as mesofílicas e termofílicas, sendo as mesofílicas as com temperatura ótima de crescimento entre 30 e 35 °C, tendo a produção de ácido láctico vagarosa ou até interrompida quando abaixo de 20 °C e inibida quando acima de 39 °C, já as termofílicas são aquelas com temperaturas ótimas entre 40 e 45 °C, tendo seu crescimento interrompido quando abaixo de 20 °C e podendo sobreviver até em temperaturas acima de 55 °C (ESKIN; SHAHIDI, 2015).

Existem culturas termofílicas que crescem juntas em uma relação de simbiose, tendo seu crescimento e produção de ácido láctico impulsionados pela ação uns dos outros, sendo os bastonetes geralmente responsáveis pela liberação de alguns aminoácidos e peptídeos do leite que impulsionam o crescimento dos cocos que por sua vez produzem uma quantidade maior de ácidos que diminui o pH do meio e ajuda o crescimento dos bastonetes (LIMA, 2019). Existe uma relação entre a temperatura e pH para o crescimento de cocos e bastonetes, sendo os bastonetes menos tolerantes as altas temperaturas e mais tolerantes ao pH alto, logo são os cocos que começam a fermentação em maior concentração, considerando que o meio onde estão estará mais quente e com menor concentração de ácidos e quando o meio começa a diminuir a temperatura e aumentar o pH devido a produção de ácido láctico os bastonetes aumentam a sua concentração em relação aos cocos (ESKIN; SHAHIDI, 2015).

As bactérias usadas na produção do iogurte são o *Streptococcus salivarius* subsp. *Thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, duas espécies termofílicas que atuam de forma simbiótica, existindo a possibilidade de adição de outras bactérias ácido-láticas para trazer outras características ao produto final, como por exemplo os microrganismos probióticos.

O *Streptococcus salivarius* subsp. *Thermophilus* não possui tantas exigências para seu crescimento, tendo no leite um meio rico para se proliferar, aumentando o pH do meio e por conta desse aumento ele começa a liberar algumas substâncias como o formiato, piruvato, folato, CO<sub>2</sub> e outros ácidos que beneficiam o crescimento do *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* de forma exponencial, que por sua vez irá produzir proteases e peptidases que podem hidrolisar a caseína em peptídeos e consequentemente em aminoácidos para o outro consumir, considerando que ele não consegue produzir proteases extracelulares, portanto essa protocooperação faz com

que esse microrganismo possa ter uma segunda onda de crescimento (ESKIN; SHAHIDI, 2015).

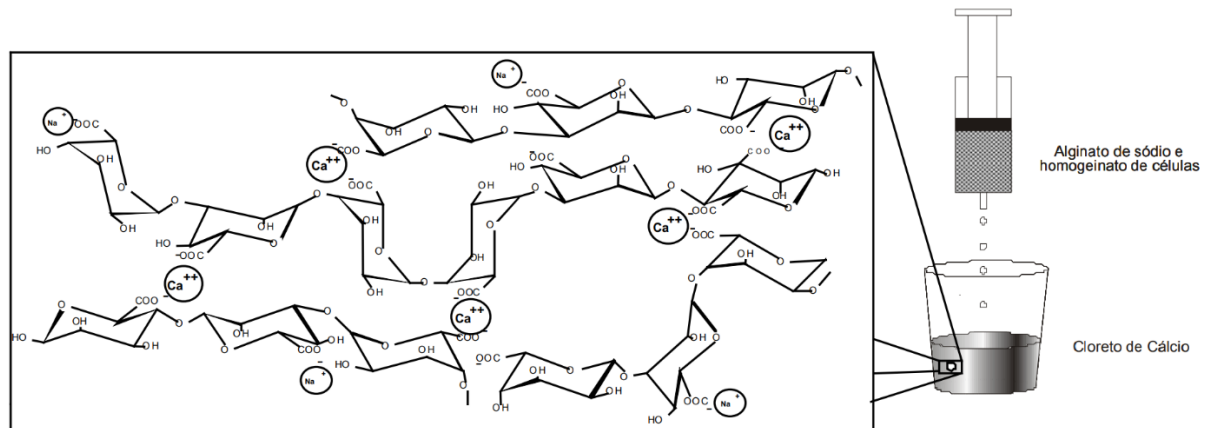
## 2.5 Encapsulação

Um grande desafio na indústria alimentícia é manter a viabilidade dos microrganismos utilizados como no caso dos produtos lácteos fermentados como os iogurtes durante todo o período de armazenamento e após o consumo com os microrganismos precisando sobreviver em áreas de alta acidez no estômago e alta concentração de enzimas e sais biliares no intestino delgado (LI *et al.*, 2009; GRANATO *et al.*, 2010). A encapsulação é um procedimento que está ganhando espaço para promover a viabilidade desses microrganismos, sendo uma técnica extensamente utilizada nas indústrias alimentícia, têxtil, agroquímica e farmacêutica (CAVALHEIRO *et al.*, 2015) que pode ser definida assim como descrito por Anal e Singh (2007, p. 241) como a “tecnologia de empacotamento de materiais sólidos, líquidos ou gasosos em cápsulas que são capazes de liberar seu conteúdo em determinado momento sob influência de condições específicas”.

A tecnologia de encapsulação de microrganismos em matrizes poliméricas vem sendo utilizada por vários motivos, como a facilidade no manuseio das cápsulas em comparação com as células em solução, a habilidade de quantificação do número de células em cada cápsula facilitando o controle da dosagem, a possibilidade de adição de compostos que auxiliam na sobrevivência das células e a capacidade de se criar um revestimento superficial nas cápsulas que ampliam as propriedades sensoriais do produto final (ANAL; SINGH, 2007). Outras grandes vantagens da encapsulação segundo Covizzi *et al.* (2007) são a alta concentração possível dentro das cápsulas e a possibilidade de reutilização das células imobilizadas.

O método tradicional utilizado para a encapsulação é a utilização de compostos poliméricos com cargas negativas, como o alginato e o pectato, que são gotejados junto com os microrganismos em uma solução com íons de cálcio, formando ligações iônicas resultando em um gel consistente e insolúvel, que aprisiona as células no seu interior (COVIZZI *et al.*, 2007). A Figura 3 exemplifica como ocorre o gotejamento e a formação do gel de alginato de cálcio.

**Figura 3 - Formação do gel de alginato de cálcio por engaiolamento**



**Fonte: Covizzi et al. (2007)**

Segundo Cavalheiro *et al.* (2015) o alginato é o material mais utilizado para encapsular probióticos, sendo ele um copolímero composto por unidades de ácidos  $\alpha$ -L-gulurônicos e  $\beta$ -D-manurônicos extraído de algas marrons, podendo chegar a compor 40% da massa seca de tais algas, e por causa de sua habilidade de espessar e gelificar soluções é muito utilizado pela indústria alimentícia, cosmética e farmacêutica, com a vantagem de não sendo tóxico para as células imobilizadas (LI *et al.*, 2009; MÜLLER; SANTOS; BRIGIDO, 2011).

As esferas criadas podem ser classificadas em macrocápsulas e microcápsulas, sendo as microcápsulas aquelas com um diâmetro variando entre 0,2 e 5000  $\mu\text{m}$  enquanto as macrocápsulas são qualquer cápsula com seu diâmetro maior que 5000  $\mu\text{m}$  (CAVALHEIRO, 2015).

Em um estudo realizado por Moura (2021) foram analisadas as tendências gerais e padrões de consumo de 217 pessoas e foi apontado que 84% dos entrevistados possuem interesse em consumir um produto tipo bubble tea à base de iogurte, o qual pode ser produzido a partir da encapsulação das bactérias lácticas utilizadas na produção do iogurte.

## 3 METODOLOGIA

### 3.1 Local De Pesquisa

Os experimentos foram realizados nos Laboratório de Bioprocessos 1 e Laboratório de Fermentação do Departamento de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, localizados no Bloco D da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Ponta Grossa durante o primeiro semestre do ano de 2022.

### 3.2 Materiais

A matéria-prima utilizada para a formulação do iogurte foi leite integral pasteurizado e homogeneizado da marca Lactobom® com 3% de teor de gordura adicionado de leite em pó integral instantâneo da marca Tirol® e cultura láctica mista de *Streptococcus salivarius* subsp. *Thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*. Para a criação das cápsulas foi utilizado alginato de sódio, pectina, cloreto de cálcio, corante alimentício e água destilada.

### 3.3 Métodos

#### 3.3.1 Preparo da solução de alginato e pectina e da solução de cloreto de cálcio

A solução de alginato foi feita em uma proporção de 1:1 de alginato de sódio para pectina, sendo pesados 2 g de cada para 100 ml de água destilada de acordo com a metodologia de Brinques e Ayub (2011) sendo misturados vigorosamente com bastão de vidro e conseqüentemente utilizando um mixer para realizar a dissolução completa da mistura, sendo que apenas a agitação manual não é suficiente para dissolução dos grumos que são formados. A seguir foi pesado 1 g de cloreto de cálcio para cada 100 ml de água destilada, sendo misturados em um erlenmeyer de 1000 ml utilizando um agitador magnético até a dissolução completa da mistura.

#### 3.3.2 Ativação das bactérias lácticas

A ativação foi realizada a partir da hidratação das bactérias de dois envelopes de fermento láctico contendo 400 mg cada em 300 ml leite previamente pasteurizado,

para isso foi medido 300 ml de leite em uma proveta e transposto em um béquer que foi levado a chama de um bico de Bunsen para ser aquecido até a temperatura de 95 °C por 5 minutos, esperou-se a temperatura abaixar até 42 °C e foi adicionado o conteúdo dos envelopes.

### 3.3.3 Preparo das cápsulas

O encapsulamento ocorreu baseado na metodologia de Brinques e Ayub (2011) criando uma solução com proporção de uma parte de concentrado de células para quatro partes de solução polimérica, além disso foi adicionado corante alimentício para ser observado a possibilidade de criar cápsulas coloridas que retêm sua cor durante a fermentação, sendo sua coloração considerada um atrativo sensorial para um novo produto a ser criado utilizando microorganismos encapsulados. Esta foi a solução formadora das cápsulas, que foram desenvolvidas a partir da aspensão na solução de cloreto de cálcio, com a utilização de uma seringa contendo a solução de alginato, pectina e bactérias lácticas com uma agulha com 1,60 mm de diâmetro fazendo o gotejamento na solução de cloreto de cálcio de uma altura de 10 cm até a superfície da solução. As cápsulas foram deixadas em agitação constante na solução de cloreto de cálcio por 30 minutos, após isso retiradas e lavadas com água destilada e refrigeradas em temperatura menor que 10 °C para manterem sua consistência firme. A figura 4 mostra as cápsulas produzidas sendo agitadas na solução de cloreto de cálcio.

**Fotografia 1 - Erlenmeyer com as cápsulas sendo agitadas em agitador magnético**



**Fonte: Autoria própria (2022)**

A formulação das cápsulas para cada amostra está descrita na tabela 1, sendo feitas variações no volume de cápsulas utilizadas, com as amostras 3 e 4 sendo duplicatas assim como as amostras 5 e 6. Como pode ser visto foram utilizados no total 6,4 g de alginato de sódio e 6,4 g de pectina para 320 ml de água destilada para a solução de alginato de sódio e pectina, 70 ml do concentrado de células e 0,70 ml de corante alimentício.

**Tabela 1 - Formulação das cápsulas**

<b>Amostra</b>	<b>Alginato de sódio (g)</b>	<b>Pectina (g)</b>	<b>Água destilada (ml)</b>	<b>Concentrado de células (ml)</b>	<b>Corante (ml)</b>
3	2	2	100	25	0,25
4	2	2	100	25	0,25
5	1,2	1,2	60	15	0,15
6	1,2	1,2	60	15	0,15

**Fonte: Autoria própria (2022)**

#### 3.3.4 Fermentação do iogurte

A formulação do iogurte foi baseada na metodologia de Li *et al.* (2014). Primeiro foi realizada a pasteurização do leite por 5 minutos em temperatura de 95 °C, após isso ele foi resfriado e mantido em temperatura de 42 °C e disposto em 6 béqueres, com a quantidade de leite utilizado variando de acordo com a tabela 2, então foi adicionado o leite em pó com o objetivo de alcançar uma concentração de sólidos necessária para melhorar a consistência do iogurte, com sua quantidade baseada em Silva (2007) que sugere a adição de 2% a 4% do volume total, sendo assim adicionados 8 g de leite em pó em cada béquer. Foram adicionados nos béqueres 1 e 2 o volume restante que complete os 400 ml de volume total com o concentrado de células assim como mostra a tabela 2 e por fim foi adicionada a quantidade de cápsulas necessárias nos béqueres 3, 4, 5 e 6 de acordo com o volume de cápsulas produzidas apresentado na tabela 1.

Tabela 2 - Formulação das amostras

Amostra	Leite (ml)	Leite em pó (g)	Concentrado de células (ml)
1	375	8	25
2	385	8	15
3	400	8	–
4	400	8	–
5	400	8	–
6	400	8	–

Fonte: Autoria própria (2022)

Após a adição das bactérias em todas amostras e feitas as análises iniciais, elas foram levadas para estufa com temperatura de 42 °C até chegar em um pH de  $4,6 \pm 0,05$ .

### 3.3.5 Análises físicas e físico-químicas

Inicialmente foi realizada uma análise do diâmetro das cápsulas para observar a padronização dos seus tamanhos utilizando-se um paquímetro digital.

Durante o desenvolvimento da fermentação foram realizadas análises em intervalos de 30 minutos de sólidos solúveis e pH para o acompanhamento da fermentação assim como Rovere e Faust (2016), também foram realizadas uma análise final de acidez titulável e cor de todos iogurtes.

As análises de sólidos solúveis foram realizadas baseadas na metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2008) com refratômetro manual portátil, utilizando duas gotas das amostras homogeneizadas no prisma e feitas as leituras em ° Brix e as análises de pH foram determinadas por potenciômetro previamente calibrado, com a inserção do eletrodo nas amostras homogeneizadas de acordo com a metodologia de Ribeiro (2011). A metodologia para determinação de acidez titulável foi baseada na metodologia apresentada na Instrução Normativa do Ministério da Agricultura do Brasil (2006) transferindo 10 g da amostra para um erlenmeyer para ser diluída em 10 ml de água, então adicionados 5 gotas de fenolftaleína 1% (m/v) e titulada com hidróxido de sódio 0,1N até o ponto em que a mistura adquire coloração rosa persistente por mais de 30 segundos.

A análise de cor foi realizada utilizando-se espectrofotômetro baseado na metodologia de Marinho *et al.* (2012) no sistema de cor  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ , onde  $L^*$  indica



luminosidade,  $a^*$  indica tons de verde quando negativo e tons de vermelho quando positivo e  $b^*$  indica tons de azul quando negativo e tons de amarelo quando positivo. Para isso, foram agitadas as amostras finais utilizando um bastão de vidro para se obter uma coloração homogênea, considerando que durante a fermentação há a formação de coágulos e separação do soro de leite da mistura, então foi passado o conteúdo final dos iogurtes para a cubeta de vidro óptico de borossilicato e com o espectrofotômetro previamente calibrado foram realizadas em triplicata as leituras como pode ser observado na figura 5.

**Fotografia 2 - Realização de análise de cor de uma amostra em espectrofotômetro**



**Fonte: Autoria própria.**

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Cápsulas

A aspersão da solução polimérica com o concentrado de células na solução de cloreto de cálcio formando as cápsulas com as células imobilizadas foi um sucesso como mostra a figura 6.

**Fotografia 3 - Cápsulas após lavagem com água destilada**



**Fonte: Autoria própria (2022)**

Na tabela 3 podem ser observadas os diâmetros das cápsulas analisadas por amostra, com a maior cápsula observada possuindo 5 mm de diâmetro e a menor possuindo 2,2 mm de diâmetro, sendo possível criar esferas com uma média de diâmetro de 3,053 mm e desvio padrão de 0,550, considerada uma variação aceitável considerando a natureza manual da metodologia utilizada, as cápsulas desenvolvidas podem ser então consideradas microcápsulas devido aos seus diâmetros que não passam de 5000  $\mu\text{m}$ .

Tabela 3 - Diâmetro das cápsulas

Diâmetro das cápsulas em mm				
	Amostra 3	Amostra 4	Amostra 5	Amostra 6
	3,0	2,8	3,0	3,3
	3,6	3,0	4,2	4,1
	2,9	2,9	3,7	3,5
	3,0	2,9	3,0	3,0
	3,6	2,7	2,7	2,2
	2,4	3,1	2,8	3,1
	2,9	4,3	2,6	2,9
	2,8	2,7	5,0	2,6
	2,4	3,2	2,5	2,8
	3,0	3,1	3,1	2,6
	2,6	2,7	2,4	3,4
	2,4	4,2	2,6	3,1
	3,1	3,1	3,0	3,3
	2,8	2,6	3,1	2,7
	2,9	2,9	4,5	2,8
<b>Média</b>	<b>2,893</b>	<b>3,080</b>	<b>3,213</b>	<b>3,027</b>
<b>Desvio Padrão</b>	<b>0,369</b>	<b>0,507</b>	<b>0,783</b>	<b>0,459</b>

Fonte: Autoria própria (2022)

Uma decorrência da metodologia utilizada foi a malformação de algumas cápsulas que não obtiveram o formato esférico desejado como pode ser observado na figura 7, tal fenômeno foi causado pela variação da vazão utilizada na seringa durante a asperção, problema que pode ser resolvido utilizando um sistema de asperção utilizando uma bomba pneumática com vazão e altura fixos.

Fotografia 4 - Formato das cápsulas produzidas



Fonte: Autoria própria (2022)

Pode ser observado nas figuras 6 e 7 que a coloração do corante foi bem distribuída nas cápsulas, porém como pode ser observado na figura 8, o corante aplicado nelas se solubilizou no meio, dando uma coloração final rosa para o iogurte, e perdendo nas cápsulas a sua coloração inicial, o que poderia ter sido um diferencial de um iogurte com células encapsuladas devido a possível preferência sensorial do consumidor de um iogurte com coloração branca e cápsulas coloridas como apontado por Moura (2021), um possível estudo posterior a ser realizado seria a aplicação de um revestimento nas cápsulas para manter a cor por um período prolongado, que além de ter o efeito visual pode ter um efeito na textura.

**Fotografia 5 - Coloração inicial do iogurte encapsulado na esquerda e coloração final do iogurte encapsulado na direita**



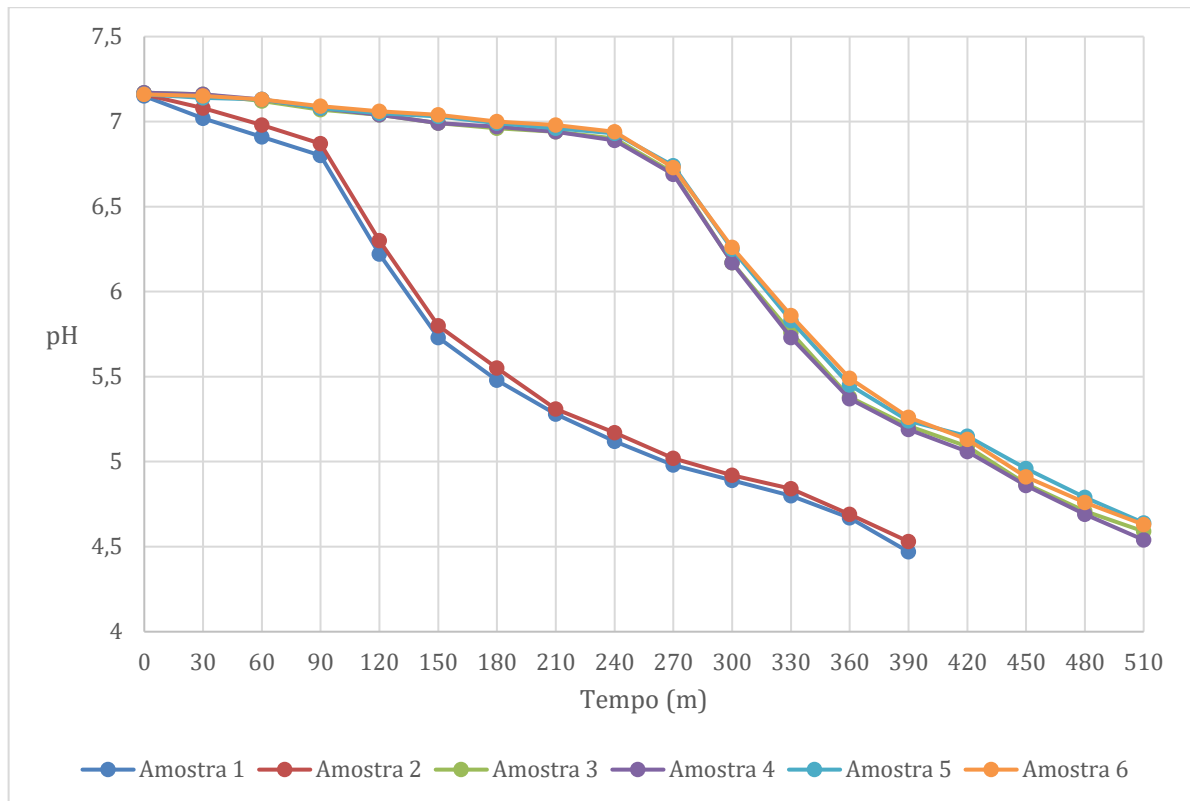
**Fonte: Autoria própria (2022)**

## **4.2 Análises**

### **4.2.1 Análise de pH**

Durante a fermentação foram realizadas análises de pH em intervalos de 30 minutos até o fim da fermentação que foi marcado no momento em que o pH se tornou  $4,6 \pm 0,05$  em cada amostra, os resultados das análises de pH estão apresentados no gráfico 1.

**Gráfico 1 - Variação dos valores de pH em relação ao tempo**



**Fonte: Autoria própria (2022)**

Como pode ser observado no gráfico 1, a fermentação das amostras com as bactérias não encapsuladas tiveram uma fermentação mais rápida com um notável abaixamento de pH após 90 minutos decorridos, em contrapartida as amostras com bactérias encapsuladas tiveram um início de fermentação retardado com um abaixamento de pH mais perceptível após 270 minutos decorridos, é importante ser mencionado que ao ser percebido o decaimento do pH em todas as amostras, também pôde ser notado visivelmente o início da coagulação do iogurte.

Esse atraso para se iniciar a fermentação tem alguns possíveis motivos, como uma baixa concentração inicial de células, que no caso do presente trabalho não se aplica devida a concentração de células ser a mesma entre as amostras 1, 3 e 4 e amostras 2, 5 e 6, outro possível motivo seria a baixa concentração de células dentro das cápsulas, podendo ser estudadas novas proporções de solução polimérica para concentrado de células do que a utilizada no trabalho, mas o principal ponto a ser citado seria a aclimação das células encapsuladas ao meio, considerando que elas foram resfriadas durante um dia após a manufatura das cápsulas sem a suspensão

delas em algum líquido, portanto é possível que elas possam ter tido um tempo de adaptação ao meio maior que as células já em suspensão no leite.

Uma possível subsequente linha de estudo a ser realizada seria a análise microbiológica das amostras com bactérias encapsuladas assim como realizado por Li *et al.* (2019), para se obter mais dados em relação ao estado das células encapsuladas, analisando a sua viabilidade dentro das cápsulas durante a fermentação e também uma análise microbiológica do meio, sendo que o escape das células das cápsulas para o meio é um fenômeno que ocorre durante utilização de células encapsuladas em fermentações.

Porém pode ser observado que além do atraso para o início da fermentação em cerca de 3 horas, o perfil da fermentação é similar entre as amostras com células encapsuladas e não encapsuladas, sendo que ocorre naturalmente uma desaceleração na diminuição do pH na fermentação de iogurtes após a queda inicial, no entanto essa desaceleração tem uma perceptível diferença no final da fermentação das amostras com células encapsuladas, essas possuindo um período mais curto para chegar ao pH desejado durante as duas últimas horas.

Por fim foi possível realizar a fermentação de iogurtes com e sem células encapsuladas, considerando os valores esperados de pH final e tempo de fermentação segundo descreve Cruz *et al.* (2016) foi possível a obtenção de iogurtes dentro dos valores de pH esperado de 4,5 a 4,7 porém com um tempo de fermentação fora do esperado de até 4 a 8 horas para as amostras com células encapsuladas, sendo o final de suas fermentações em 8 horas e 30 minutos, de maneira oposta ficou-se dentro do esperado nas amostras com células não encapsuladas tendo elas 6 horas e 30 minutos de fermentação.

#### 4.2.2 Análise de sólidos solúveis

A tabela 4 apresenta os resultados das análises de sólidos solúveis descritos em seus valores de ° Brix encontrados nas leituras realizadas em refratômetro manual portátil, a partir dos resultados é possível perceber uma tendência de redução do nível de sólidos solúveis durante o período de fermentação em todas as amostras, resultado esperado considerando o consumo dos açúcares presentes pelos microorganismos utilizados

Tabela 4 - Variação de valores de ° Brix em relação ao tempo

Tempo (m)	° Brix					
	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4	Amostra 5	Amostra 6
0	14	15	14	13	14	14
30	14	14	14	14	14	14
60	14	14	14	14	14	14
90	13	13	14	14	14	14
120	12	13	14	14	14	14
150	12	11	14	14	14	14
180	11	11	14	14	14	14
210	11	11	14	14	13	14
240	10	10	13	13	13	12
270	10	10	12	10	10	10
300	10	9	12	10	10	10
330	9	9	10	9	9	9
360	9	9	9	8	9	9
390	8	8	8	8	8	8
420	–	–	8	7	8	8
450	–	–	7	7	8	8
480	–	–	7	7	8	8
510	–	–	7	6	7	8

Fonte: Autoria própria (2022)

Como observado na tabela 4, as amostras com células não encapsuladas analisadas começaram a exibir um abaixamento do ° Brix após 90 minutos, acompanhando o decaimento de pH e coagulação do iogurte, já nas amostras com células encapsuladas é percebido um decaimento anterior a diminuição do pH, que ocorreu em 270 minutos de fermentação em contrapartida ao decaimento de ° Brix em 240 minutos para as amostras 3, 4 e 6 e em 210 minutos para a amostra 5.

Pode ser observado que o ° Brix final encontrado nas formulações sem cápsulas foram maiores do que as com cápsulas, isso pode ser referente ao maior tempo de fermentação das amostras com cápsulas, tendo assim mais tempo para serem consumidos os açúcares presentes em solução, ademais pode ser comentado que os valores obtidos de sólidos solúveis são similares aos encontrados por Mann *et al.* (2014) de 7,5 ° Brix.

#### 4.2.3 Análise de acidez titulável

Os valores de acidez titulável estão apresentados na tabela 5, representados em % de ácido láctico presente no momento final da fermentação do iogurte.

**Tabela 5 - Valores finais de acidez titulável**

<b>Amostra</b>	<b>% de ácido láctico</b>
1	0,73
2	0,71
3	0,67
4	0,68
5	0,66
6	0,64

**Fonte: Autoria própria (2022)**

Os valores encontrados são aceitáveis segundo os valores recomendados pela Instrução Normativa nº46 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) de 23 de outubro de 2007 que estabelece valores entre 0,6% e 1,5%. Ribeiro, Andreolli e Menezes (2011) encontraram valores similares, com iogurtes analisados apresentando acidez com valores de 0,69%, 0,68% e 0,67%.

#### 4.2.4 Análise de cor

Estão apresentados na tabela 5 os valores médios de L\*, a\* e b\* que foram realizados em triplicatas.

**Tabela 6 - Valores médios de L\*, a\* e b\* obtidos**

<b>Amostra</b>	<b>L*</b>	<b>a*</b>	<b>b*</b>
1	49,443	8,190	-20,397
2	48,060	8,540	-20,127
3	41,020	23,550	-27,007
4	52,833	7,413	-1,257
5	50,493	4,107	-2,933
6	54,173	5,177	-2,913

**Fonte: Autoria própria (2022)**

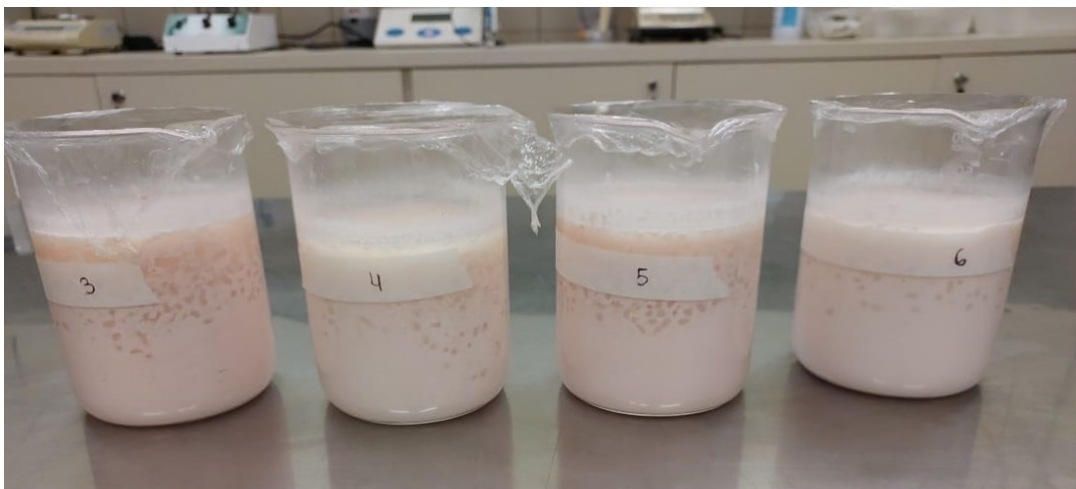
Pode ser observado que para as amostras 1 e 2 os resultados são similares como esperado, considerando que a única mudança na formulação seria a concentração de células livres, as colorações dessas amostras podem ser observadas na figura 9.



**Fotografia 6 - Coloração final das amostras 1 e 2**

Fonte: Autoria própria (2022)

Porém para as amostras com células encapsuladas é notável uma diferença entre os valores da amostra 3 para os das outras amostras, que obtiveram valores parecidos, apesar dessa diferença não chega a ser uma discrepância relevante a olho nu como demonstra a figura 10, porém é perceptível a diferença entre as amostras com células não encapsuladas e encapsuladas, sendo já mencionado que as cápsulas sofreram uma transferência de sua cor da cápsula para o próprio iogurte.

**Fotografia 7 - Coloração final das amostras 3, 4, 5 e 6**

Fonte: Autoria própria (2022)

## 5 CONCLUSÃO

O presente trabalho comprova a efetividade da encapsulação das bactérias ácido-láticas responsáveis pela fermentação de iogurtes em matriz de alginato de sódio, pectina e cloreto de cálcio, utilizando seringa com agulha com diâmetro de 1,60 mm para aspersão das cápsulas obtidas com diâmetro médio de 3,053 mm e desvio padrão 0,550.

Em conjunto com a produção das cápsulas foi possível realizar a fermentação de iogurtes com as células encapsuladas e comparação com iogurtes produzidos com as células não encapsuladas, demonstrando a viabilidade de um novo produto alimentício que pode trazer benefícios a saúde de seus consumidores, ramo que demonstra ter um crescimento significativo no país.

A partir das análises realizadas foi possível perceber um atraso no início da fermentação das amostras com células encapsuladas com um aumento de 2 horas até a obtenção do produto final, o que demonstra a necessidade de novas pesquisas explorando melhores formulações para as cápsulas e melhores formas de adaptação das células encapsuladas ao meio, um subseqüente trabalho a ser realizado seria um experimento com análise microbiológica utilizando um modelo de trato gastrointestinal humano para se obter novos dados sobre a sobrevivência dos microorganismos encapsulados e não encapsulados no nosso sistema digestivo, também se recomenda uma análise sensorial com o produto obtido para conhecer melhor as características desejadas pelos consumidores e por último se recomenda a pesquisa de novas formas de fixação de cor nas cápsulas, sendo que apenas a adição de corante alimentício durante sua criação resulta na transferência da coloração das cápsulas para o iogurte.

## REFERÊNCIAS

ANAL, A. K.; SINGH, H. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. **Trends in food science & technology**, v. 18, n. 5, p. 240-251, 2007.

ARAI, S. Studies on functional foods in Japan – state of the art. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, v. 60, n. 1, p. 9-15, 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007**: regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados. Diário Oficial da União, 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006**: métodos analíticos físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos. Diário Oficial da União, 2006.

BRINQUES, G. B.; AYUB, M. A. Z. Effect of microencapsulation on survival of *Lactobacillus plantarum* in simulated gastrointestinal conditions, refrigeration, and yogurt. **Journal of food engineering**, v. 103, n. 2, p. 123-128, 2011.

CAVALHEIRO, C. P. *et al.* Encapsulação: alternativa para a aplicação de microrganismos probióticos em alimentos termicamente processados. **Ciência e natureza**, v. 37, n. 5, p. 65-74, 2015.

CONSUMO de iogurte anda melhor do que o esperado, revela Kantar. **Abras**, 2022. Disponível em: <https://www.abras.com.br/clipping/geral/109812/consumo-de-iogurte-anda-melhor-do-que-o-esperado-revela-kantar>. Acesso em: 17 jan. 2022.

COVIZZI, L. G. *et al.* Imobilização de células microbianas e suas aplicações biotecnológicas. **Semina: ciências exatas e tecnológicas**, v. 28, n. 2, p. 143-160, 2007.

CRUZ, A. *et al.* **Processamento de produtos lácteos**: queijos, leites fermentados, bebidas lácteas, sorvete, manteiga, creme de leite, doce de leite, soro em pó e lácteos funcionais. Rio de Janeiro: Elsevier Brasil, 2017.

CRUZ, A. *et al.* **Química, bioquímica, análise sensorial e nutrição no processamento de leite e derivados**: coleção lácteos. Rio de Janeiro: Elsevier Brasil, 2016.

DA SILVA, I. S. C.; PANDOLFI, M. A. C. Análise das principais tendências no mercado brasileiro de iogurtes. **Revista interface tecnológica**, v. 17, n. 2, p. 523-534, 2020.

DE FARIA, B. N. Como a dieta pode afetar a composição do leite. **A vaca leiteira do século 21**: lições de metabolismo e nutrição. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, p. 17, 2021.

DE KRUIF, C. G. *et al.* Casein micelles and their internal structure. **Advances in colloid and interface science**, v. 172, p. 36-52, 2012.

DELFINO, A. J. O Brasil frente aos grandes exportadores internacionais do mercado mundial de lácteos. **Encontro de gestão e negócios (EGEN)**, 2014.

ESKIN, M.; SHAHIDI, F. **Bioquímica de alimentos**. Rio de Janeiro: Elsevier Brasil, 2015.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Milk and dairy products in human nutrition**. Rome: FAO, 2013.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Guidelines for the evaluation of probiotics in food**. Rome: FAO, 2006.

FERRARI, B. L.; MEIRA, K. C.; SOARES, M. P. **Alergias e intolerâncias alimentares**: comportamento e perfil dos consumidores-uma revisão bibliográfica. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de São Carlos, Buri, 2022.

GIAZZI, A. *et al.* Propriedades tecnológicas das bactérias ácido lácticas isoladas na região norte do Paraná. **Brazilian journal of development**, v. 6, n. 4, p. 18861-18877, 2020.

GRANATO, D. *et al.* Probiotic dairy products as functional foods. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, v. 9, n. 5, p. 455-470, 2010.

HAULY, M. C. de O.; FUCHS, R. H. B.; PRUDENCIO-FERREIRA, S. H. Suplementação de iogurte de soja com frutooligossacarídeos: características probióticas e aceitabilidade. **Revista de nutrição**, v. 18, p. 613-622, 2005.

LABAYEN, I. *et al.* Relationship between lactose digestion, gastrointestinal transit time and symptoms in lactose malabsorbers after dairy consumption. **Alimentary pharmacology & therapeutics**, v. 15, n. 4, p. 543-549, 2001.

LEIRA, M. H. *et al.* Fatores que alteram a produção e a qualidade do leite: Revisão. **Pubvet**, v. 12, p. 172, 2018.

LI, M. *et al.* Preparation of Bifidobacterium breve encapsulated in low methoxyl pectin beads and its effects on yogurt quality. **Journal of dairy science**, 2019.

LI, S. *et al.* Lactobacillus casei immobilized onto montmorillonite: survivability in simulated gastrointestinal conditions, refrigeration and yogurt. **Food research international**, v. 64, p. 822-830, 2014.

LI, X. Y. *et al.* Microencapsulation of a probiotic bacteria with alginate-gelatin and its properties. **Journal of microencapsulation**, v. 26, n. 4, p. 315-324, 2009.

LIMA, C. H. G. S. **Avaliação de propriedades probióticas e tecnológicas in vitro de bactérias ácido lácticas isoladas de queijos coloniais artesanais comercializados em Pelotas, RS.** 2019. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Alimentos) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2019.

LOMER, M. C. E.; PARKES, G. C.; SANDERSON, J. D. lactose intolerance in clinical practice—myths and realities. **Alimentary pharmacology & therapeutics**, v. 27, n. 2, p. 93-103, 2008.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos.** São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

MANN, H. *et al.* Development and evaluation of probiotic yogurts containing Lactobacillus acidophilus and Streptococcus thermophilus. **International journal of food and nutritional sciences**, v. 3, p. 112-8, 2014.

MARINHO, M. V. M. et al. Análise físico-química e sensorial de iogurte de leite de cabra com polpa de umbu. **Revista brasileira de produtos agroindustriais**, v. 14, p. 497-510, 2012.

MOURA, R. V. **Viabilidade de produto lácteo tipo bubble tea à base de iogurte com esferas de alginato, pectina e cloreto de cálcio**. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Química) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2021.

MÜLLER, J. M.; SANTOS, R. L.; BRIGIDO, R. V. Produção de alginato por microrganismos. **Polímeros**, v. 21, p. 305-310, 2011.

NASCIMENTO, A. A. I.; FONTANA, D. C. **Processo de industrialização de iogurte com adição da geléia de morango de forma contínua e descontínua e sua influência na viscosidade do iogurte final, comparando com marcas existentes na região de Ponta Grossa**. 2012. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnólogo em Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2012.

PEREIRA, N. L. V. *et al.* **Efeito da quimosina associada ao Lactobacillus rhamnosus EM1107 nas características nutricionais do soro de leite caprino**. 2020. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2020.

RIBEIRO, A. M.; ANDREOLLI, E. F.; MENEZES, L. A. A. **Elaboração de iogurte de chocolate com menta**. 2011. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnólogo em Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2011.

RIBEIRO, M. C. E. **Produção e caracterização de iogurte probiótico batido adicionado de Lactobacillus acidophilus livre e encapsulado**. 2011. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

ROBERFROID, M. B. Concepts and strategy of functional food science: the european perspective. **The american journal of clinical nutrition**, v. 71, n. 6, 2000.

ROVERE, B. O.; FAUST, D. V. **Aplicação do processo de foto estimulação com luz visível na produção de iogurte natural**. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Química) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2016.

SGARBIERI, V. C. Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro de leite. **Revista de nutrição**, v. 17, p. 397-409, 2004.

SILVA, S. V. **Desenvolvimento de iogurte probiótico com prebiótico**. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

SIQUEIRA, K. B. O mercado consumidor de leite e derivados. **Circular Técnica Embrapa**, v. 120, p. 1-17, 2019.

SIQUEIRA, K. B.; ROCHA, D. T. **Consumo de lácteos na pandemia: uma análise de consumo entre as classes de renda e regiões no Brasil**. CILeite, 2020. Disponível em: <https://www.cileite.com.br>. Acesso em: 24 nov. 2021.

SOLÉ, D. *et al.* Guia prático de diagnóstico e tratamento da Alergia às Proteínas do Leite de Vaca mediada pela imunoglobulina E. **Revista brasileira de alergia e imunopatologia**, v. 35, n. 6, 2012.

SOUZA, G. B. **Processamento de iogurte sabor maracujá**. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2022.

SUISSA, R. *et al.* Molecular genetics for probiotic engineering: dissecting lactic acid bacteria. **Trends in microbiology**, 2021.

TEJADA-SIMON, M. V. *et al.* Ingestion of yogurt containing *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* to potentiate immunoglobulin A responses to cholera toxin in mice. **Journal of dairy science**, v. 82, n. 4, p. 649-660, 1999.

WANG, W.; WU, Y.; ZHANG, D. Association of dairy products consumption with risk of obesity in children and adults: a meta-analysis of mainly cross-sectional studies. **Annals of epidemiology**, v. 26, n. 12, p. 870-882, 2016.

WILIŃSKA, A. *et al.* Kinetics of thermal inactivation of alkaline phosphatase in bovine and caprine milk and buffer. **International dairy journal**, v. 17, n. 6, p. 579-586, 2007.

YOGURT set to break the US\$100bn mark. **Dairy industries**, 2021. Disponível em: <https://www.dairyindustries.com/news/39027/yogurt-set-to-break-the-us100bn-mark/>. Acesso em: 17 jan. 2022.

ZALKIND, S. **Ilya Mechnikov**: his life and work. Honolulu: University press of the pacific, 2001.