

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta **Dissertação** será disponibilizado somente a partir de 29/07/2022.

Universidade Estadual Paulista

“Júlio de Mesquita Filho”

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

**Morangos desidratados como veículos de
probióticos**

Aline Soares de Oliveira

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-graduação em
Alimentos e Nutrição para obtenção
do título de Mestre em Alimentos e
Nutrição.

Área de concentração: Ciência dos
Alimentos

Orientadora: Profa. Dra. Henriette
Monteiro Cordeiro de Azeredo

Coorientadores: Profa. Dra. Kátia
Sivieri

Prof. Dr. Marcos David Ferreira

Araraquara – SP

2020

Morangos desidratados como veículos de probióticos

Aline Soares de Oliveira

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-graduação em
Alimentos e Nutrição para obtenção
do título de Mestre em Alimentos e
Nutrição.

Área de concentração: Ciência dos
Alimentos

Orientadora: Profa. Dra. Henriette
Monteiro Cordeiro de Azeredo

Coorientadores: Profa. Dra. Kátia
Sivieri

Prof. Dr. Marcos David Ferreira

Araraquara – SP

2020

O49m

Oliveira, Aline Soares de.

Morangos desidratados como veículos de probióticos / Aline Soares de Oliveira. – Araraquara: [S.n.], 2020.
84 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição. Área de Concentração em Ciência dos Alimentos.

Orientadora: Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo.

Coorientadora: Kátia Sivieri.

Coorientador: Marcos David Ferreira.

1. Bactérias Probióticas. 2. Revestimentos Comestíveis. 3. Aginato. 4. Morangos Desidratados. 5. *Bacillus coagulans*. I. Azeredo, Henriette Monteiro Cordeiro de, orient. II. Sivieri, Kátia, coorient. III. Ferreira, Marcos David, coorient. IV. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Morangos desidratados como veículos de probióticos

AUTORA: ALINE SOARES DE OLIVEIRA
ORIENTADORA: HENRIETTE MONTEIRO CORDEIRO DE AZEREDO
COORIENTADORES: MARCOS DAVID FERREIRA
KÁTIA SIVIERI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em ALIMENTOS E NUTRIÇÃO, área: Ciência dos Alimentos pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. HENRIETTE MONTEIRO CORDEIRO DE AZEREDO
Departamento de Instrumentação / Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA

Prof. Dr. HERNANE DA SILVA BARUD
Núcleo de Pesquisa em Biotecnologia / Universidade de Araraquara-UNIARA

Profa. Dra. DANIELA CARDOSO UMBELINO CAVALLINI
Departamento de Análises Clínicas / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP- Araraquara

Araraquara, 29 de julho de 2020

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Agradeço à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara-SP pela oportunidade da realização do curso de Mestrado

A minha orientadora professora Profa. Dra. Henriette Monteiro Cordeiro de Azeredo pelos ensinamentos, paciência, disposição e por ter aceitado me orientar.

Aos Coorientadores Profa. Dra. Kátia Sivieri e Prof. Dr. Marcos David Ferreira por terem aceito me coorientar, pelos ensinamentos e disponibilidade de seus laboratórios.

A Embrapa Instrumentação de São Carlos por disponibilizar os laboratórios para pesquisa.

AGRADECIMENTOS PESSOAIS

Aos professores do Departamento de alimentos e nutrição da UNESP de Araraquara, SP obrigada pelos ensinamentos, por sempre passar seus conhecimentos e disponibilizar o uso dos laboratórios nos quais são responsáveis. Em especial a Professora Kátia Sivieri e sua equipe que me orientou e sempre que pode atendeu aos meus pedidos.

Gratidão pela equipe de laboratório da Embrapa, em especial Carol e Lulliana que sempre estiveram em disposição a me ajudar.

As técnicas de laboratório da Embrapa pelo ensinamento e disposição, em especial a Joana meu muito obrigada.

Gratidão ao meu companheiro e amigo Paulo pela paciência e apoio nas realizações dos meus sonhos.

A minha mãe pelo apoio.

E a Deus acima de tudo.

“Tente uma, duas, três vezes e se possível tente a quarta, a quinta e quantas vezes for necessário. Só não desista nas primeiras tentativas, a persistência é amiga da conquista. Se você quer chegar a onde a maioria não chega, faça o que a maioria não faz.”

Bill Gates

Resumo

Matrizes não-lácteas têm sido estudadas como veículos de bactérias probióticas, porque é cada vez maior o número de indivíduos que não consomem produtos lácteos devido a restrições alimentares. **Objetivo:** desenvolver morangos desidratados adicionados de probióticos (*Bacillus coagulans*) por diferentes técnicas de incorporação dos probióticos em morangos (impregnação direta de probióticos ou aplicação de revestimento de alginato com probiótico) e dois métodos de desidratação (liofilização e secagem em estufa). **Métodos:** Os morangos receberam quatro tratamentos, impregnação seguida de liofilização (IP-L), impregnação seguida de secagem em estufa (IP-E), revestimento seguido de liofilização (RP-L) e revestimento seguido de secagem em estufa (RP-E). Foram realizadas análises físico-químicas (umidade, acidez total titulável, sólidos solúveis totais, pH, vitamina C, antocianinas, cor e firmeza) e a viabilidade dos probióticos no morango após o processamento e ao longo de 6 meses. Os morangos foram estocados a 25 °C e UR 50%. Os morangos com adição de probióticos foram submetidos às condições gastrointestinais simuladas por meio de ensaio *in vitro* para verificar o comportamento dos probióticos contidos nos produtos à passagem pelo trato gastrointestinal (TGI) e posterior liberação no duodeno. **Resultados:** O número de probióticos viáveis apresentaram concentrações acima de 6 log UFC.g⁻¹, valores encontrados em matrizes probióticas lácteas. Houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os métodos de desidratação, sendo que os morangos secos em estufa apresentaram maiores alterações na viabilidade probiótica e características físico-químicas durante o processamento. Os morangos impregnados com probióticos (IP-L e IP-E) apresentaram contagens de viáveis maiores quando comparados com os revestidos, provavelmente por terem penetrado mais na matriz do morango, sendo protegidos por ela. O tempo de estocagem não afetou significativamente ($p > 0,05$) a viabilidade dos esporos de *Bacillus coagulans*. **Conclusão:** O processo de incorporação probiótica (por revestimento ou impregnação) e posterior desidratação (por estufa ou liofilização) levou à produção de snacks de morangos com capacidade de entregar com sucesso células probióticas viáveis ao trato gastrointestinal. A digestão gastrointestinal simulada demonstrou a capacidade da cepa esporogênica em sobreviver ao processo digestivo. **Palavras-chave:** Bactérias Probióticas; Revestimentos Comestíveis; Alginato; Morangos Desidratados; *Bacillus coagulans*.

Abstract

Non-dairy matrices have been studied as vehicles of probiotic bacteria, because the number of individuals who do not consume dairy products due to dietary restrictions has increased. **Objective:** to develop dehydrated strawberries incorporated with probiotics (*Bacillus coagulans*) by different techniques (direct impregnation of probiotics or application of alginate coating with probiotics) and two methods of dehydration (freeze drying and oven drying). **Methods:** Strawberries received four treatments: probiotic impregnation followed by freeze drying (IP-L), probiotic impregnation followed by oven drying (IP-E), probiotic coating followed by freeze-drying (RP-L) and probiotic coating followed by oven drying (RP-E). Physico-chemical analyses (moisture content, total titratable acidity, total soluble solids, pH, Vitamin C, Anthocyanins, Color and Firmness) and the viability of probiotics in the strawberry after processing and over 6 months of storage were performed. The strawberries were stored at 25 ° C and 50% RH. The strawberries were submitted to simulated gastrointestinal conditions by means of an in vitro test to verify the behavior of the probiotics contained in the products when passing through the gastrointestinal tract and subsequent release in the duodenum. **Results:** The number of viable probiotics showed concentrations above 6 log cfu.g⁻¹, values found in dairy probiotic matrices. There was a significant difference ($p < 0.05$) between the dehydration methods, with oven-dried strawberries showing greater changes in viability and physico-chemical characteristics during processing. Strawberries impregnated with probiotics (IP-L and IP-E) showed higher viable counts when compared to the coated ones, probably because the probiotics were absorbed by the strawberry matrix and were protected by it. The storage time did not significantly affect ($p > 0.05$) the viability of *Bacillus coagulans* spores. **Conclusion:** The process of probiotic incorporation (by coating or impregnation) followed by dehydration (oven-drying or freeze drying) led to a dehydrated snack able to successfully deliver viable probiotic cells to the gastrointestinal tract. The simulated gastrointestinal digestion demonstrated the ability of the sporogenic strain to survive the digestive process.

Keywords: Probiotic bacteria; Edible Coatings; Dehydrated Strawberries; *Bacillus coagulans*.

SUMÁRIO

1. Introdução	11
2. Revisão de Literatura	15
2.1. <i>Morango</i>	15
2.2. <i>Métodos de desidratação</i>	17
2.2.1. <i>Secagem por estufa</i>	18
2.2.2. <i>Liofilização</i>	18
2.3. <i>Probióticos</i>	19
2.3.1. <i>Bacillus coagulans</i>	21
2.4. <i>Plastificante e Prebióticos</i>	22
2.5. <i>Revestimentos comestíveis</i>	23
2.5.1. <i>Alginato</i>	24
3. Objetivos	27
4. Materiais e Métodos	28
4.1. <i>Ativação da cultura liofilizada</i>	28
4.2. <i>Preparo da biomassa probiótica</i>	28
4.3. <i>Preparo das dispersões probióticas</i>	30
4.4. <i>Tratamentos dos morangos</i>	31
4.5. <i>Obtenção dos morangos probióticos desidratados</i>	32
4.6. <i>Viabilidade das células probióticas nos morangos desidratados</i>	34
4.7. <i>Análises físico-químicas</i>	35
4.7.1. <i>Umidade</i>	36
4.7.2. <i>Acidez total titulável (ATT)</i>	36
4.7.3. <i>Sólidos solúveis totais (SST)</i>	36
4.7.4. <i>Cor</i>	37
4.7.5. <i>Firmeza</i>	37
4.7.6. <i>Antocianinas</i>	38
4.7.7. <i>Ácido ascórbico</i>	39
4.8. <i>Teste da viabilidade probiótica no sistema do trato gastrointestinal (TGI) in vitro</i>	40
4.8.1. <i>Viabilidade probiótica após passagem pelo Trato Gastrointestinal in vitro</i>	42
4.9. <i>Análise estatística</i>	42
5. Resultados e Discussões	44
5.1. <i>Caracterização do morango in natura</i>	44
5.2. <i>Avaliação da viabilidade probiótica durante o processamento e estocagem</i>	45
5.3. <i>Comparação e características físicas e químicas dos morangos</i>	48
5.4. <i>Características físico-químicas no processamento e estocagem dos morangos desidratados</i>	49
5.4.1. <i>Acidez Total Titulável (ATT) e Sólidos Solúveis Totais (SST)</i>	49
5.4.2. <i>Cor</i>	52
5.4.3. <i>Firmeza</i>	55
5.4.4. <i>Antocianinas</i>	57

5.4.5. Vitamina C.....	59
5.4.6. Viabilidade probiótica após passagem pelo trato gastrointestinal in vitro	62
6. Conclusões	64
7. Referências bibliográficas	65
Anexo.....	84

1. Introdução

Os probióticos são definidos como "micro-organismos vivos que, ao serem administrados em quantidades adequadas, conferem algum benefício à saúde do hospedeiro" (1,2). Esses benefícios funcionais dos probióticos dependem do tipo de bactéria, bem como do número de bactérias viáveis que são entregues ao sistema gastrointestinal (3). As bactérias probióticas, ao resistir à passagem pelo trato gastrointestinal, podem ser capazes de unir-se à microbiota comensal e apresentar efeitos benéficos após aderência ao intestino do hospedeiro (4). Podem ocupar os sítios de ligações na mucosa intestinal, formando uma espécie de barreira física, impedindo a ligação das bactérias patogênicas que serão excluídas pela competição (5).

A incorporação de bactérias probióticas em produtos lácteos é um dos formatos mais comuns disponíveis no mercado de alimentos contendo probióticos, porém o crescente número de indivíduos com intolerância à lactose, dislipidemia e adesão ao vegetarianismo/veganismo reforçam a importância do desenvolvimento de alimentos não lácteos carreadores de probióticos, como frutas e hortaliças (6). Várias tentativas foram feitas em frutas frescas e desidratadas impregnadas com probióticos (7, 8).

O uso de esporos probióticos de *Bacillus* spp. é uma alternativa promissora em produtos probióticos, já que os esporos têm maior capacidade de resistir às condições de processamento, armazenamento e passagem pelo trato gastrointestinal (TGI), permitindo a incorporação dessas bactérias a

vários tipos de alimentos, uma vez que são estáveis em uma ampla faixa de temperaturas, o que significa que o produto pode ser armazenado à temperatura ambiente de forma dessecada, sem qualquer efeito deletério na viabilidade (9). Os esporos podem sobreviver a condições estomacais ácidas e germinar no intestino (10).

Os morangos (*Fragaria x ananassa* Duchesne) são pseudofrutos muito delicados e perecíveis, com taxa respiratória alta, alta taxa de perda de peso e suscetíveis a ataques de fungos (11). Uma maneira de prolongar a vida útil das frutas é o método de secagem. Vários métodos têm sido aplicados à secagem de morangos, incluindo secagem por ar quente, secagem por micro-ondas, secagem por infravermelho e liofilização (12). A secagem por estufa é um método de desidratação mais rápido e econômico, onde o sólido a ser seco é exposto a uma corrente quente de ar que flui continuamente, onde a umidade evapora. Esse processo apresenta algumas desvantagens, como uma redução da qualidade do produto em relação ao produto original, devido a utilização de altas temperaturas para a secagem. A liofilização é baseada na desidratação por sublimação de um produto congelado. Devido à ausência de água líquida e às baixas temperaturas requeridas para o processo, a maioria das deteriorações e reações microbiológicas são interrompidas, assim como a perda de nutrientes e alterações de cor e forma, resultando em um produto final de excelente qualidade (13). Porém apresentam algumas desvantagens, sendo um processo dispendioso e requer tempos de processamento muito longos, o que restringe sua aplicabilidade a produtos de alto valor (14).

A maneira de aplicação das bactérias probióticas em frutas ocorre geralmente por meio de impregnação da fruta (ou de pedaços da fruta) com uma suspensão do probiótico (15-17). Alternativamente, os probióticos podem ser incorporados a uma matriz polimérica usada como revestimento das frutas (18-21).

Um revestimento comestível é uma camada fina de material comestível aplicada sobre a superfície de um produto alimentício. Recentes estudos mostraram que os revestimentos comestíveis podem ser veículos de compostos bioativos como vitaminas, enzimas, antioxidantes e probióticos, que permitem o desenvolvimento de filmes e revestimentos comestíveis bioativos (22). Juntamente com a proteção que esses revestimentos podem oferecer aos micro-organismos, outras propriedades benéficas também podem ser conferidas, como liberação bacteriana no trato gastrointestinal (23). O alginato é um polissacarídeo derivado a partir das algas marinhas marrons (Phaeophyceae) com propriedade espessante, geleificante e estabilizante. Constitui-se como um copolímero linear composto de resíduos com ligação 1,4 glicosídicas com o ácido β -D-manurônico (M) e de ácido α -L-gulurônico (G) (24), que por sua natureza polianiônica, é um material interessante como veículo de probióticos, já que mantém o conteúdo imobilizado no pH baixo do estômago, mas se expande quando desprotonado, liberando o conteúdo no pH do intestino (25).

Esses filmes ou revestimentos podem conter prebióticos, que são definidos como substratos utilizados seletivamente pelos micro-organismos hospedeiros que conferem um benefício à saúde (26).

No presente estudo, objetivou-se avaliar o efeito da técnica de incorporação de *Bacillus coagulans* (impregnação ou revestimento) e do método de secagem (лиоfilização ou secagem em estufa) sobre as propriedades de morangos desidratados e a estabilidade das bactérias ao longo do processamento, armazenamento e passagem pelo trato gastrointestinal (TGI) *in vitro*.

6. Conclusões

As técnicas utilizadas neste trabalho para incorporar probióticos permitiram introduzir probióticos por diferentes técnicas em morangos e posterior secagem em estufa ou por liofilização.

Os morangos desidratados por liofilização utilizando a técnica de impregnação (IP-L), carregaram uma concentração maior de células probióticas viáveis de 10^7 UFC g⁻¹, valores médios encontrados em matrizes lácteas probióticas comerciais;

Os morangos desidratados por liofilização apresentaram menor alteração nas características físico-químicas durante o processamento.

As técnicas de incorporação probióticas utilizadas entregaram o probiótico em concentrações significativamente iguais ($p>0,05$) no duodeno. Portanto, a presença do revestimento não alterou significativamente ($p>0,05$) na entrega do probiótico no duodeno;

Assim conclui-se que os esporos de *Bacillus coagulans* podem ser incorporados a frutas previamente ao tratamento de desidratação, sendo capazes de se manter viáveis para posterior entrega no duodeno.

7. Referências bibliográficas

1. FAO/WHO. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Joint FAO/WHO Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. 2002, 1-11.
2. Hill C, Guarner, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, Morelli L, Canani RBC, Flint HJ, Salminen S, Calder PC, Sander ME. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2014; 11: 506-14.
3. Govender M, Choonara YE, Kumar P, Du Toit LC, Van Vuuren S, Pillay V. A review of the advancements in probiotic delivery: Conventional vs. non-conventional formulations for intestinal flora supplementation. *AAPS Pharm Sci Tech*. 2014; 15(1):29-43.
4. Mitsuoka T. Development of functional foods. *Bioscience of Microbiota. Food an Health*. 2014, 33: 117-28.
5. Varavallo MA, Thomé IN, Teshima E. Aplicação de bactérias probióticas para profilaxia e tratamento de doenças gastrointestinais. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*. 2008; 29: 83-104.

6. Martins EMF, Ramos AM, Vanzela ESL, Stringheta PC, Pinto CLO, Martins JM. Products of vegetable origin: A new alternative for the consumption of probiotic bacteria. *Food Research International*. 2013, 51:764-70.
7. Speranza B, Campaniello D, Bevilacqua A, Altieri C, Sinigaglia M, Corbo MR. Viability of *Lactobacillus plantarum* on fresh-cut chitosan and alginate-coated apple and melon pieces. *Front. Microbiol*. 2018; 9: 2538, 2018.
8. Akman K, Uysal E, Uzkaya GU, Tornuk E, Durak, M.Z. Development of probiotic carrier dried apples for consumption as snack food with the impregnation of *Lactobacillus paracasei*. *LWT- Food Sci Technol*. 2019; 103: 60-8.
9. Cutting SM. *Bacillus* probiotics. *Food Microbiol*. 2011; 28(2): 214-220.
10. Maathuis AJH, Keller D, Farmer, S. Survival and metabolic activity of the GanedenBC30 strain of *Bacillus coagulans* in a dynamic in vitro model of the stomach and small intestine. *Benef. Microbes*. 2010;1 (1): 31-6.
11. Azodanlou R, Darbellay C, Luisier JL, Villettaz JC, Amadò R. Quality assessment of strawberries (*Fragaria* species). *J. Agric Food Chem*. 2003; 51(3): 715-21.

12. Corrêa SC, Clerici MTPS, Garcia JS, Ferreira EB, Eberlin MN, Azevedo L. Evaluation of dehydrated marolo (*Annona crassiflora*) flour and carpels by freeze-drying and convective hot-air drying. Food Research International. 2011;44 (7):2385-2390.
13. Ratti C. Hot air and freeze-drying of high-value foods: A review Journal of Food Engineering. 2001; 49: 311-319.
14. Karam MC, Petit J, Zimmer D, Djantou EB, Scher J. Effects of drying and grinding in production of fruit and vegetable powders: A review J Food Engineering. 2016; 188:32-49.
15. Rößle C, Auty MAE, Brunton N, Gormley RT, Butler F. Evaluation of fresh-cut apple slices enriched with probiotic bacteria. Innov Food Sci Emerg Technol. 2010; 11: 203–9.
16. Rodrigues S, Silva LCA, Mulet A, Cárcel JA, Fernandes AN. Development of dried probiotic apple cubes incorporated with *Lactobacillus casei* NRRL B-442. J Functional Foods. 2018; 41:48-54.
17. Zura-Bravo L, Rodriguez A, Stucken K, Vega-Gálvez A. Drying kinetics of probiotic-impregnated murta (*Ugni molinae* T.) berries. J Food Sci Technol. 2019; 56:103-113.

18. Tapia MS, Rojas-Graü MA, Rodríguez FJ, Ramirez J, Carmona A, Martín-Belloso O. Alginate- and gellan-based edible films for probiotic coatings on fresh-cut fruits. *J Food Sci.* 2007; 72(4): 190-2.
19. López de Lacey AM, López-Caballero ME, Gómez-Estaca J, Gómez-Guillén MC, Montero P. Functionality of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* incorporated to edible coatings and films. *Innov Food Sci Emerg Technol.* 2012; 16: 277.
20. López de Lacey AM, López-Caballero ME, Montero P. Agar films containing green tea extract and probiotic bacteria for extending fish shelf-life. *LWT Food Sci Technol.* 2014; 55: 559, 2014.
21. Romano N, Tavera-Quiroz MJ, Bertola N. Mobili P, Pinotti A, Gómez-Zavaglia A. Edible methylcellulose-based films containing fructo-oligosaccharides as vehicles for lactic acid bacteria. *Food Res. Int.* 2014; 64: 560-6.
22. Falguera V, Quintero JP, Jiménez A, Muñoz JA, Ibarz A. Edible films and coatings: structures, active functions and trends in their use. *Trends in Food Sci and Technol, Reino Unido.* 2011; 22(6): 292-303.

23. Cook MT, Tzortzis G, Charalampopoulos, D.; Khutoryanskiy, V. V. Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery. J. control release. 2012; 162(3): 56-67.
24. Pinheiro AC, Cerqueira MA, Souza BWS, Martins JT, Teixeira JA, Vicente AA. Utilização de revestimentos/filmes edíveis para aplicações alimentares. Boletim de Biotecnologia, Braga. 2010; 85:18-28.
25. Mei L, He F, Zhou RQ, Wu CD, Llang R, Xie R, Ju XJ, Wang W, Chu LY. Novel intestinal-targeted Ca-alginate-based carrier for pH-responsive protection and release of lactic acid bacteria. ACS Appl Mat Interfaces. 2014; 6: 5962-70.
26. Gibson G, Hutkins R, Sanders M, Prescott SL, Reimer RA, Salminen SJ, Scott K, Stanton C, Swanson KS, Cani PD, Verbeke K, Reid G. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2017; 14: 491-502.
27. Santos AM. A cultura do morango. Brasília, DF: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária; 1993. p.35.

28. Henschel JM, Resende JTV, Giloni-Lima PC, Zeist André R, Lima Filho, RB, Santos MH. Produção e qualidade de morango cultivado sob diferentes cores de cobertura de túnel baixo. *Horticultura Brasileira*. 2017; 35: 364-70.
29. Giampieri F, Forbes-Hernandez TY, Gasparrini M, Alvarez-Suarez JM, Afrin S, Bompadre S, Quiles JL, Mezzetti B, Battino M. Strawberry as a health promoter: an evidence based review *Food Funct*. 2015; 6 (5):1386-1398.
30. Hashmi MS, East AR, Palmer JS, Heyes JA. Hypobaric treatment stimulates defence-related enzymes in strawberry. *Postharvest Biol. Technol*. 2013; 85: 77-82.
31. Neri F, Cappellin L, Spadoni A, Alarcon AA, Aprea E, Romano A, Gasperi F, Biasioli F. Role of strawberry volatile organic compounds in the development of *Botrytis cinerea* infection. *Plant Pathol*. 2014; 64: 709-17.
32. Roussos PA, Triantafyllidis A, Kepolas E. Strawberry fruit production and quality under conventional, integrated and organic management. *Acta Hortic*. 2012; 926: 541-6.
33. Khoshnevisan B, Shariati HM, Rafiee S, Mousazadeh H. Comparison of energy consumption and GHG emissions of open field and greenhouse strawberry production *Renew. Sustain. Energy Ver*. 2014; 29:316-14.

34. FAOSTAT Statistical Database of the Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2020.
35. Anuário Brasileiro da Fruticultura. Editora Gazeta, Santa Cruz do Sul; 2015. p. 104.
36. Chen XD, Mujumdar AS. Drying technologies in food processing. Wiley-Blackwell, West Sussex, United Kingdom; 2008. 352 p.
37. Kudra T, Mujumdar AS. Advanced drying Technologies. 2nd Ed. CRC Press, Boca Raton, FL, USA; 2009.448p.
38. Wu L, Orikasa T, Ogawa Y, Tagawa A. Vacuum drying characteristics of eggplants. J. Food Eng. 2007; 83: 422-29.
39. Doymaz I, Göl E. Convective drying Characteristics of eggplant slices. J Food Process Engineering. 2011; 4(4):1234-52.
40. Cohen JS, Yang TCS. Progress in food dehydration. Trends in Food Sci & Technol.1995; 6 (1): 20-25.
41. Puig A, Perez- Munuera I, Carcel JA, Hernando I, Garcia- Perez JV. Moisture loss kinetics and microstructural changes in eggplant (*Solanum*

melongena L.) during conventional and ultrasonically assisted convective drying. Food and Bioproducts Processing. 2012; 90: 624-32.

42. Vega-Mercado H, Góngora-Nieto MM, Barbosa-Cánovas GB. Advances in dehydration of foods. Journal of food Engineering. 2001; 49: 288.

43. Bermudez-Brito M, Plaza- Diaz J, Muñoz-Quezada J, Gomez-Llorente C. Probiotic Mechanisms of Action. Ann Nutr Metab. 2012; 61, p. 160-74.

44. Plaza-Diaz J, Ruiz-Ojeda FJ, Gil-Campos M, Gil, A. Mechanisms of Action of Probiotics. Advances in nutrition, 2019; 10:49-66.

45. Coppola MM, Turnes CG. Probióticos e resposta imune. Ciência Rural. 2004;34(4):1297-303.

46. Amara AA, Shibl A. Role of Probiotics in health improvement, infection control and disease treatment and management. Saudi Pharm J. 2015; 23(2): 107-14.

47. Metchnikoff E. The Prolongation of Life. New York: Putmans Sons;1908. 343 p.

48. Metchnikoff II. The Prolongation of Life: Optimistic Studies. Springer Publishing Company. New York, NY, USA, 2004.

49. Tavera-Quiroz MJ, Romano N, Mobili P, Pinotti A, Gómezzavaglia A, Bertola N. Green apple baked snacks functionalized with edible coatings of methylcellulose containing *Lactobacillus plantarum*. Journal of Functional Foods. 2015; 16:164-73.
50. Vivek K, Mishra S, Pradhan RM. Characterization of spray dried probiotic Sohiong fruit powder with *Lactobacillus plantarum*. LWT Food Sci Technol. 2020; 117:18699.
51. Hardy H, Harris J, Lyon E, Beal J, Foey AD. Probiotics, prebiotics and immunomodulation of gut mucosal defenses: Homeostasis and immunopathology. Nutrients. 2013; 5: 1869-1912.
52. Corona-Hernandez RI, Álvarez-Parrilla E, Lizardi-Mendoza J, Islas-Rubio AR, De La Rosa La, Wall-Medrano A. Structural stability and viability of microencapsulated probiotic bacteria: A review. Comprehensive Reviews Food Sci Food Safety. 2013;12(6):614-628.
53. Succi M, Tremonte P, Pannella G, Tipaldi L, Cozzollino A, Romaniello R, Sorrentino E, Coppola R. Pre-cultivation with selected prebiotics enhances the survival and the stress response of *Lactobacillus rhamnosus* strains in simulated gastrointestinal transit. Front. Microbiol. 2017.

54. Özüsağlam MA, Aksaray U. Importance of *Bacillus coagulans* bacterium as probiotic in animal nutrition Süleyman Demirel University Journal of Agriculture (Turkey).2010; 5: 50-7.
55. Konuray G, Erfinkaya, Z. Potential use of *Bacillus coagulans* in the food industry. Foods. 2018; 7: 92-102.
56. Donskey CJ, Hoyen CK, Das SM, Farmer S, Dery M, Bonomo RA. Effect of oral *Bacillus coagulans* administration on the density of vancomycin-resistant enterococci in the stool of colonized mice. Lett Appl Microbiol. 2001; 33(1): 84-8.
57. Maathuis AJH, Keller D, Farmer, S. Survival and metabolic activity of the Ganeden BC30 strain of *Bacillus coagulans* in a dynamic *in vitro* model of the stomach and small intestine. Benef. Microbes. 2010;1(1): 31-6.
58. Casula G, Cutting SM. *Bacillus* Probiotix: Spore Germination in the Gastrointestinal Tract. Appl Environ Microbiol. 2002; 68 (5): 2344-52.
59. Abhari k, Shekarforoush SS, Sajedianfard J, Hosseinzadeh S, Nazifi S. The effect of probiotic, prebiotic and symbiotic diets containing *Bacillus coagulans* and inulin on rat intestinal microbiota. Iran J of Vet Res. 2015;16 (3): 267-73.

60. Hum L. *Bacillus coagulans* significantly improved abdominal pain and bloating in patients with IBS. Postgrad Med. 2009; 121:119-24.
61. Rogha M, Esfahani MZ, Zangarzadeh AH. The Efficacy of a Synbiotic Containing *Bacillus coagulans* in Treatment of Irritable Bowel Syndrome: A Randomized Placebo-Controlled Trial. Gastroenterol Hepatol Bed Bench. 2014; 7(3):156-63.
62. Keller D, Van Dinter R, Cash H, Farmer S, Venema K. *Bacillus coagulans* GBI-30, 6086 increases plant protein digestion in a dynamic, computer-controlled in vitro model of the small intestine (TIM-1). Beneficial Microbes. 2017;8(3):1-6.
63. Bomko TV, Nosalskaya TN, Kabluchko TV, Lisnyak YV, Martynov AV. Immunotropic Aspect of the *Bacillus coagulans* Probiotic Action. J Pharm Pharmacol. 2017 Aug; 69(8):1033-40.
64. Ratna S, Yelikar KA, Deshpande S. Clinical Study of *Bacillus coagulans* Unique IS-2 (ATCC PTA-11748) in the treatment of patients with Bacterial Vaginosis. Indian J Microbio.2012; 52: 396-99.
65. Tian H, Liu Di, Yao Y, Ma S, Zhang X, Xiang A. Effect of sorbitol plasticizer on the structure and properties of melt processed polyvinyl alcohol films. J Food Sci. 2017; 82(12): 2926-32.

66. Suyatma NE, Tighzert L, Copinet A, Coma V. Effects of Hydrophilic Plasticizers on Mechanical, Thermal, and Surface Properties of Chitosan Films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005; 53(10), 3950-57.
67. Felix M, Carpintero V, Romero A, Guerrero A. Influence of sorbitol on mechanical and physico-chemical properties of soy protein-based bioplastics processed by injection molding. *Polímeros*. 2016; 26(4):277-81.
68. Sarmiento-Rubiano LA, Zúñiga M, Pérez-Martínez G, Yebra M J. Dietary supplementation with sorbitol results in selective enrichment of lactobacilli in rat intestine. *Research in Microbiology*. 2007; 158 (8–9): 694-701.
69. Jenkins D, Kendall C, Vuksan V. Inulin, oligofructose and intestinal function. *J Nutr*. 1999; 129(7): 1431-33.
70. Scantlebury-Manning T, Gibson GR. Prebiotics Best Practice and Research *Clinical Gastroenterology*. 2004; 18: 287-9.
71. Hassan B, Chatha SAS, Hussain AI, Zia KM, Akthar N. Recent advances on polysaccharides, lipids and protein based edible films and coatings: A review. *International J. Biological Macromolecules*. 2018; 109: 1095- 1107.

72. Baloch AK, Buckle KA, Edwards RA. Effect of coating with starch and nordihydroguaiaretic acid on the stability of carotenoids of dehydrated carrot. J. Chem Soc Pak.1986; 8: 59-62.
73. Zhao YP, Chang KC. Sulfite and starch affect color and carotenoids of dehydrated carrots (*Daucus carota*) during storage. Journal of Food Science. 1995; 60:324-47.
74. Gol NB, Patel PR, Rao TVR. Improvement of quality and shelf-life of strawberries with edible coatings enriched with chitosan Postharvest Biol. Technol. 2013; 85: 185-195.
75. Cuq B.; Gontard N, Guilbert S. Edible films and coatings as active layers IN ML Rooney (Ed.), Active food packaging, Blackie Academic & Professional. Glasgow.1995;111-142.
76. Pereira JO, Soares J, Sousa S, Madureira AR, Gomes A, Pintado M. Edible films as carrier for lactic acid bacteria LWT: Food Sci Technol. 2016; 73:543-50.
77. Capela P, Hay TKC, Shah NP. Effect of cryoprotectants, prebiotics and microencapsulation on survival of probiotic organisms in yoghurt and freeze-dried yoghurt. Food Research International. 2006; 39: 203-11.

78. Thu B, Bruheim P, Espevik T, Smidsrød O, Soon-Shiong P, Skjåk-Bræk G. Alginate polycation microcapsules. I. Interaction between alginate and polycation Biomaterials.1996,17: 1031-1040.
79. Sachan NK, Pushkar S, Jha A, Bhattacharya A. Sodium alginate: The wonder polymer for controlled drug delivery Journal of Pharmacy Research. 2009; 2:1191-99.
80. Benavides S, Carvajal RV, Reyesb JE. Physical, mechanical and antibacterial properties of alginate film: Effect of the crosslinking degree and oregano essential oil concentration. J. Food Eng. 2012; 110 (2): 239-39.
81. Liakos L, Rizzello L, BAYER IS, POMPA PP, CINGOLANI R, ATHANASSIOU A. Controlled antiseptic release by alginate polymer films and beads. Carbohydrate Polymers. 2013, 92:176-183.
82. Goh CH, Heng PWS, CHAN LW. Alginates as a useful natural polymer for microencapsulation and therapeutic applications. Carbohydrate Polymers. 2012; 88(1): 1-12.
83. Rhim JW. Physical and chemical properties of water resistant sodium alginate films. LWT Food Sci Technol. 2004; 37: 323-30.

84. Al-Musa S, Abu Fara D, Badwan AA. Evaluation of parameters involved in preparation and release of drug loaded in crosslinked matrices of alginate. *Journal of Controlled Release*. 1999; 57(3): 223-32.
85. Annan NT, Borza AD, Hansen LT. Encapsulation in alginate-coated gelatin microspheres improves survival of the probiotic *Bifidobacterium adolescentis* 15703T during exposure to simulated gastro-intestinal conditions. *Food Res. Int.* 2008; 41(4): 184-93.
86. Association of Official Analytical Chemists – AOAC. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists International. Washington: Ed. Patrícia Cunniff. 1997; 2 (16): 37.
87. Teixeira IN, Stringheta PC, Oliveira FA. Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. *Rev. Ceres*. 2008; 55: 297- 304.
88. Bresolin JD, Hubinger SZ. Metodologia para determinação de ácido ascórbico em sucos de citrus utilizando cromatografia líquida de alta eficiência. In: Simpósio Nacional de instrumentação agropecuária; 2014.p.497-9.
89. Freire FC, Adorno MAT, Sakamoto IK, Antoniassi R, Sampaio AC, Santos KMOS, Sivieri K. Impact of multi-functional fermented goat milk beverage on

gut microbiota in a dynamic colon model. Food Res Int. 2017; 99: 315-317, 2017.

90. Possemiers S, Verthé K, Uyttendaele S, Vestraete W. PCR-DGGE-based quantification of stability of the microbial community in a simulator of the human intestinal microbial ecosystem. FEMS Microbi Ecol. 2004; 49(3): 495-507.

91. Ornela-Paz JJ, Yahia EM, Ramírez-Bustamante N, et al. Physical attributes and chemical composition of organic strawberry fruit (*Fragaria x ananassa* Duch, Cv. Albion) at six stages of ripening. Food Chemistry. 2013; 138 (1): 372-381.

92. Neocleus D. Effects of cultivars and coco-substrates on soilless strawberry production in Cyprus. Journal of Berry Research. 2012; 2(4): 207-213.

93. Riveros B, Ferrer J, Bórquez R. Spray drying of a vaginal probiotic strain of *Lactobacillus acidophilus*. Drying Technol: An International J. 2009 27(1):123-32.

94. Ragoonanan V, Malsam J, Bond DR, Aksan A. Roles of membrane structure and phase transition on the hyperosmotic stress survival of

Geobacter sulfurreducens. Biochimica et Biophysica Acta. 2008; 1778: 2283-2290.

95. Shinde T, Vemuri R, Tristram SG, Eri R, Stanley R, Perera P. Probiotic *Bacillus coagulans* MTCC 5856 spores exhibit excellent in-vitro functional efficacy in simulated gastric survival, mucosal adhesion and immunomodulation. J. Functional Foods. 2013; 52: 100-8.

96. Marcial-Coba MS, Pjaca AS, Andersen CJ, Knoche L S, Nielsen D. S. Dried date paste as carrier of the proposed probiotic *Bacillus coagulans* BC4 and viability assessment during storage and simulated gastric passage. LWT Food Sci Technol. 2019; 99:197-201.

97. Oliveira-Alcântara AV, Abreu AAS, Gonçalves C, Fuciños P, Cerqueira MA, Gama FMP, Pastrana LM, Rodrigues S, Azeredo HMC. Bacterial cellulose/cashew gum films as probiotic carriers. LWT Food Sci Technol. 2020; 130:109699.

98. Gulati T, Datta AK. Mechanistic understanding of case-hardening and texture development during drying of food materials. J food Engineering. 2015; 166:119-38.

99. Demirel D, Turhan M. Air-drying behavior of Dwarf Cavendish and Gros Michel banana slices. J. food engineering. 2003; 59(1):1-11.

100. Askari GR, Emam- Djomeh Z, Mousavi SM. Effects of Combined Coating and Microwave Assisted Hot-air Drying on the Texture, Microstructure and Rehydration Characteristics of Apple Slices. Food Sci Tech Int. 2006; 12(1): 39-46.

101. Qiu G, Wang D, Song X, Deng Y, Zhao Y. Degradation kinetics and antioxidant capacity of anthocyanins in air-impingement jet dried purple potato slices. Food Research International. 2018; 105:121-28.

102. Stringheta PC. Identificação da estrutura e estudo da estabilidade das antocianinas extraídas da inflorescência de capim gordura (*Melinis minutiflora*, Pal de Beauv.). [Tese]- Campinas: UNICAMP; 1991.138 f.

103. Dithal R, Mora NB, Watson D, kohli P, Chouldhary R. Efficacy of limonene nano coatings on post-harvest shelf life of strawberries. LWT Food Sci Technol. 2018; 97: 124-134.

104. Vial C, Guilbert S, Cuq JL. Osmotic dehydration of kiwi fruits: influence of process variables on the color and ascorbic acid content. Sci. Des Aliments. 1991;11: 63-84.

105. Heng K, Guilbert S, Cug JL. Osmotic dehydration of papaya: Influence of process variables on the product quality. *Sciences des Aliments*. 1990,10:831-48.

106. Bobbio FO, Bobbio PA. *Introdução à química de alimentos*. 2 ed. São Paulo: Varela. 223 p.

107. Canizares D, Mauro MA. Enhancement of Quality and Stability of Dried Papaya by Pectin-Based Coatings as Air-Drying Pretreatment. *Food Bioprocess Technol*. 2015; 8:1187-97.