



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE
ALIMENTOS

Área de concentração: Ciência de Alimentos

MONIQUE SILVEIRA RAMOS

POTENCIAL PREBIÓTICO DA FARINHA DE FEIJÃO-DE-CORDA VERDE E SUA
APLICAÇÃO NO ENCAPSULAMENTO DE *LIMOSILACTOBACILLUS REUTERI*

ITAPETINGA - BA
BRASIL
2026

MONIQUE SILVEIRA RAMOS

**POTENCIAL PREBIÓTICO DA FARINHA DE FEIJÃO-DE-CORDA VERDE E SUA
APLICAÇÃO NO ENCAPSULAMENTO DE *LIMOSILACTOBACILLUS REUTERI***

Tese apresentada à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, como parte integrante das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, para obtenção do título de Doutora em Engenharia e Ciência de Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dra. Sibelli Passini Barbosa Ferrão

Coorientador: Prof. Dr. Nívio Batista Santana

**ITAPETINGA - BA
BRASIL
2026**

FICHA CATALOGRÁFICA

633.33
R144p

Ramos, Monique Silveira.

Potencial prebiótico da farinha de feijão-de-corda verde e sua aplicação no encapsulamento de *Limosilactobacillus reuteri*. / Monique Silveira Ramos. – Itapetinga-BA: UESB, 2026.

139f.

Tese apresentada à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, como parte integrante das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, para obtenção do título de Doutora em Engenharia e Ciência de Alimentos. Área de concentração: Ciência de Alimentos. Sob a orientação do Prof.^a D. Sc. Sibelli Passini Barbosa Ferrão e coordenação do Prof. D. Sc. Nívio Batista Santana.

1. Feijão-de-corda – Farinha – Atividade probiótica. 2. Feijão-de-corda – *Limosilactobacillus reuteri* - Matrizes encapsulantes. 3. Alimentos funcionais – Prebiótico - Sistemas simbióticos. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia –Programa de Pós-Graduação de Doutorado em Engenharia e Ciências de Alimentos, *Campus* de Itapetinga. II. Ferrão, Sibelli Passini Barbosa. III. Santana, Nívio Batista. IV. Título.

CDD(21): 633.33

Catálogo na Fonte:

Adalice Gustavo da Silva – CRB 535-5ª Região
Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-BA

Índice Sistemático para desdobramentos por Assunto:

1. Alimentos funcionais - Leguminosas

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Título: “POTENCIAL PREBIÓTICO DA FARINHA DE FEIJÃO-DE-CORDA VERDE E SUA APLICAÇÃO NO ENCAPSULAMENTO DE *LIMOSILACTOBACILLUS REUTERI*”

Autor (a): Monique Silveira Ramos

Orientador (a): Prof.^a Dr.^a Sibelli Passini Barbosa Ferrão

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de **DOUTORA EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: CIÊNCIA DE ALIMENTOS**, pela Banca Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 **CRISTIANE MARTINS VELOSO**
Data: 04/05/2026 13:19:43-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a Dr.^a Cristiane Martins Veloso
(UESB)

Documento assinado digitalmente
 **BRUNA DE ANDRADE BRAGA MENDES**
Data: 02/05/2026 16:29:51-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a Dr.^a Bruna de Andrade Braga Mendes
(UFBA)

Documento assinado digitalmente
 **WILSON RODRIGUES PINTO JUNIOR**
Data: 30/04/2026 11:14:51-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Wilson Rodrigues Pinto Junior
(UFBA)

Documento assinado digitalmente
 **ANA PAULA DA FONSECA MACHADO**
Data: 04/05/2026 09:32:09-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a Dr.^a Ana Paula da Fonseca Machado
(UESB)

Documento assinado digitalmente
 **SIBELLI PASSINI BARBOSA FERRAO**
Data: 11/06/2026 11:19:33-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a Dr.^a Sibelli Passini Barbosa Ferrão
Orientadora – UESB
Presidente da Banca

Itapetinga-BA, 29 de abril de 2026.

“O que me espera é maior do que a minha espera.”

(Davi Melo)

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me sustentar em silêncio quando gritei por dentro, renovar minhas forças nos dias em que pensei não tê-las, guiar cada etapa desta trajetória e permitir que eu conclua esta pesquisa, sentindo-me verdadeiramente agradecida e abençoada.

À minha mãe, Mônica, sinônimo de amor discreto e cuidado constante, cujos sacrifícios silenciosos e sonhos renunciados edificaram os alicerces que me permitiram trilhar meu próprio caminho com dignidade e estrutura. Tudo o que sou e tudo o que conquistei carregam o seu toque, a sua força e o seu exemplo.

Aos meus avós, Josué e Judite, que, mesmo sem terem cursado faculdade, me ensinaram ao longo da vida lições valiosas que nenhuma universidade poderia oferecer. Vocês são a prova de que o saber mais profundo vem da alma. O legado de vocês ultrapassa qualquer formação acadêmica e permanece como uma das maiores riquezas da minha vida.

Ao meu pai e boadrasta, Romes e Doranilde, pelo cuidado, apoio, incentivo e por acreditarem no meu potencial. Vocês também fazem parte desta conquista.

Aos meus irmãos, Rômulo, Anna Karolline e Kauan, por serem apoio e torcida constante. Saber que posso contar com vocês torna qualquer desafio mais leve.

Aos meus sobrinhos e afilhados, João Gabriel, Alice, Benício e Anna Laura, por trazerem alegria, esperança e luz aos meus dias. Vocês me lembram diariamente o valor do amor genuíno.

A Matheus, pela parceria, cuidado, paciência e incentivo. Muito do que sou hoje foi construído com base nas trocas e nos aprendizados vividos ao seu lado.

Aos amigos Antônia, Carlos, Emília, Gustavo, Izabelle, Jabson, Jonathan, Mariana e Silvânia, pelo apoio constante em diferentes momentos desta trajetória. Obrigada pela amizade, pelas reflexões, pelos conselhos e por me ajudarem a manter o equilíbrio emocional mesmo nos períodos mais intensos.

À minha orientadora, Sibelli Passini, por conduzir esta pesquisa com sensibilidade, responsabilidade e competência. Sou profundamente grata pela paciência, sabedoria e disponibilidade dedicadas à minha formação.

Ao meu coorientador, Nívio Batista Santana, pelo apoio, confiança, ensinamentos e contribuições ao longo desta pesquisa.

À banca examinadora, por contribuírem para o aprimoramento desta pesquisa e pelo tempo dedicado a esta etapa tão importante.

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB) e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos (PPGECAL), por proporcionarem um espaço de formação acadêmica, de crescimento pessoal e de construção de vínculos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa da Bahia (FAPESB), pelo apoio financeiro e incentivo à pesquisa.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para o desenvolvimento desta pesquisa e torceram por mim.

As pessoas encontradas ao longo desta jornada são parte fundamental de tudo o que foi construído e possuem um valor inestimável.

Esta tese representa mais do que o resultado de uma pesquisa. Ela carrega histórias, renúncias, esperanças e o esforço de quem nunca deixou de acreditar que o conhecimento pode transformar vidas.

Se hoje encerro este ciclo, é porque muitas mãos, muitos afetos e muita fé me trouxeram até aqui.

Obrigada por tudo e por sempre.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	vi
SUMÁRIO.....	viii
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE TABELAS	xiv
RESUMO	xv
ABSTRACT	xvi
CAPÍTULO I.....	17
1.Introdução geral.....	18
2.Revisão bibliográfica.....	20
2.1. Microbiota intestinal	20
2.2. Alimentos funcionais	21
2.3. Prebióticos	23
2.4. Leguminosas	25
2.4.1. Feijão-de-corda (<i>Vigna unguiculata</i> L. Walp)	25
2.5. Probióticos	28
2.5.1. Gênero <i>Lactobacillus</i>	29
2.5.1.1. Espécie <i>Lmb. reuteri</i>	30
2.6. Encapsulamento como alternativa para melhorar a biodisponibilidade e funcionalidade de microrganismos probióticos	32
2.6.1. Encapsulamento de probióticos por gelificação iônica	34
2.6.2. Encapsulamento de probióticos por liofilização.....	35
2.6.3. Encapsulamento de probióticos por secagem por atomização	36
2.6.4. Materiais de revestimento utilizados para o encapsulamento de probióticos.....	37
2.6.4.1. Maltodextrina	38

2.6.4.2. Pectina	39
2.6.4.3. Componentes alternativos “naturais”	40
2.7. Abordagens experimentais para avaliação do potencial prebiótico e da funcionalidade de probióticos.....	42
Referências	44
CAPÍTULO II.....	66
1. Objetivos.....	67
1.1. Objetivo geral	67
1.2. Objetivos específicos	67
CAPÍTULO III	69
Resumo	70
1. Introdução.....	70
2. Metodologia.....	73
2.1. Obtenção da matéria-prima e preparo da FFCV	73
2.2. Determinação dos parâmetros físicos e químicos.....	73
2.3. Avaliação do padrão microbiológico da FFCV	74
2.4. Digestão gastrointestinal <i>in vitro</i> da FFCV	74
2.5. Determinação do teor de compostos fenólicos totais da FFCV e FFCVD	75
2.6. Perfil dos compostos fenólicos da FFCV e FFCVD.....	76
2.7. Índice de bioacessibilidade	76
2.8. Análise espectroscópica da FFCV e FFCVD	77
2.9. Microrganismos e condições de cultivo.....	77
2.10.Preparo dos meios de cultivo	78
2.11.Determinação dos escores da atividade prebiótica da FFCV e FFCVD.....	78

2.12. Avaliação dos efeitos da FFCV e FFCVD na atividade metabólica de <i>Lmb. reuteri</i> durante fermentação colônica <i>in vitro</i>	79
2.13. Análise estatística	80
3. Resultados e Discussão.....	80
3.1. Parâmetros físicos e químicos da FFCV	80
3.2. Padrão microbiológico da FFCV	82
3.3. Teor de compostos fenólicos totais e perfil fenólico da FFCV e da FFCVD.....	82
3.4. Análise espectroscópica da FFCV e FFCVD	85
3.5. Escores da atividade prebiótica da FFCV e FFCVD	86
3.6. Efeitos da FFCV e FFCVD na atividade metabólica de <i>Lmb. reuteri</i> durante fermentação colônica <i>in vitro</i>	88
3.6.1. Viabilidade celular e valores de pH.....	88
3.6.2. Produção de ácidos orgânicos.....	90
4. Conclusão	92
Referências	92
Material Suplementar	102
CAPÍTULO IV	103
Resumo	104
1. Introdução.....	104
2. Metodologia.....	106
2.1. Cultivo de <i>Lmb. reuteri</i>	106
2.2. Desenvolvimento das microcápsulas de <i>Lmb. reuteri</i>	107
2.2.1. Formulações e preparação das soluções encapsulantes.....	107
2.2.2. Produção das microcápsulas de <i>Lmb. reuteri</i> por secagem por atomização	108
2.3. Propriedades reológicas das soluções encapsulantes.....	108

2.4. Eficiência do encapsulamento de <i>Lmb. reuteri</i>	109
2.5. Caracterização das microcápsulas de <i>Lmb. reuteri</i>	109
2.5.1. Aspectos morfológicos	109
2.5.2. Propriedades físicas e químicas	110
2.5.3. Cor instrumental	110
2.5.4. Análise espectroscópica.....	111
2.5.5. Propriedades térmicas.....	111
2.6. Viabilidade de <i>Lmb. reuteri</i> livre e microencapsulado durante digestão gastrointestinal <i>in vitro</i>	112
2.7. Análise estatística	112
3.Resultados.....	113
3.1. Propriedades reológicas das soluções encapsulantes.....	113
3.2. Eficiência do encapsulamento de <i>Lmb. reuteri</i>	117
3.3. Caracterização das microcápsulas de <i>Lbm. reuteri</i>	119
3.3.1. Aspectos morfológicos	119
3.3.2. Propriedades físico-químicas.....	120
3.3.3. Cor instrumental	122
3.3.4. Análise espectroscópica.....	124
3.3.5. Propriedades térmicas.....	126
3.4. Viabilidade de <i>Lmb. reuteri</i> livre e microencapsulado durante digestão gastrointestinal <i>in vitro</i>	129
4.Conclusão	132
Referências	132

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1. Comparação entre eubiose e disbiose.....	21
Figura 2. Folhas (A), vagens (B) e sementes do feijão-de-corda (C).....	26
Figura 3. Mecanismos de ação dos probióticos.....	28
Figura 4. Morfologia celular de <i>Lmb. reuteri</i> observada em microscópio (A); morfologia das colônias de <i>Lmb. reuteri</i> em ágar Man-Rogosa-Sharpe (MRS) (B).....	31
Figura 5. Esquema do encapsulamento de probióticos por gelificação iônica.....	34
Figura 6. Esquema do encapsulamento de probióticos por liofilização.....	35
Figura 7. Esquema do encapsulamento de probióticos por secagem por atomização.....	36

CAPÍTULO III

Figura 1. Cromatogramas dos compostos fenólicos da FFCV e da FFCVD por CLAE.....	83
Figura 2. Espectros do MIR da FFCV e FFCVD.....	85
Figura 3. Escores da atividade prebiótica da FFCV, da FFCVD e do FOS frente ao <i>Lmb. reuteri</i>	87
Figura 4. Efeito das diferentes fontes de carbono na viabilidade de <i>Lmb. reuteri</i> e nos valores de pH durante 48 h de fermentação colônica <i>in vitro</i>	88

CAPÍTULO IV

Figura 1. Curvas de fluxo das soluções encapsulantes utilizadas no encapsulamento de <i>Lmb. reuteri</i>	113
Figura 2. Viscosidade das soluções encapsulantes utilizadas no encapsulamento de <i>Lmb. reuteri</i>	115
Figura 3. Módulos dinâmicos de armazenamento (G') e de perda (G'') das soluções encapsulantes em função da frequência.....	116

Figura 4. Aspectos morfológicos das microcápsulas de <i>Lmb. reuteri</i>	119
Figura 5. Aspecto visual das microcápsulas de <i>Lmb. reuteri</i> produzidas por secagem por atomização.....	124
Figura 6. Espectros médios obtidos por MIR dos materiais de revestimento, das soluções encapsulantes e das microcápsulas de <i>Lmb. reuteri</i>	125
Figura 7. Comportamento térmico dos materiais de revestimento e das microcápsulas de <i>Lmb.reuteri</i>	127
Figura 8. Viabilidade de <i>Lmb. reuteri</i> livre e encapsulado durante digestão gastrointestinal <i>in vitro</i>	129

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO III

Tabela 1. Valores médios $\pm$ desvios-padrão dos parâmetros físicos e químicos da FFCV.....	80
Tabela 2. Quantificação dos compostos fenólicos da FFCV e da FFCVD por CLAE.....	83
Tabela 3. Conteúdo de ácidos orgânicos (g/L) em meios com diferentes fontes de carbono ao longo de 12, 24 e 48 h de fermentação colônica <i>in vitro</i>	90

CAPÍTULO IV

Tabela 1. Formulações das soluções encapsulantes utilizadas no microencapsulamento de <i>Lmb. reuteri</i>	108
Tabela 2. Contagem de células viáveis de <i>Lmb. reuteri</i> antes e após o processo de secagem por atomização e eficiência do encapsulamento.	118
Tabela 3. Valores médios $\pm$ desvios-padrão das propriedades físico-químicas das microcápsulas de <i>Lmb. reuteri</i>	121
Tabela 4. Características de cor das microcápsulas de <i>Lmb. reuteri</i>	122
Tabela 5. Características dos eventos térmicos dos materiais de revestimento e das microcápsulas de <i>Lmb. reuteri</i>	127

RAMOS, M. S. **Potencial prebiótico da farinha de feijão-de-corda verde e sua aplicação no encapsulamento de *Limosilactobacillus reuteri***. Itapetinga-BA: UESB, 2026. 139 p. (Tese - Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos).

RESUMO

A crescente demanda por produtos funcionais tem impulsionado a investigação de novas fontes de compostos bioativos e de ingredientes com potencial prebiótico para aplicação em sistemas simbióticos. Nesse contexto, o feijão-de-corda (*Vigna unguiculata*) destaca-se como uma alternativa promissora devido à sua composição química rica em carboidratos não digeríveis, fibras dietéticas e compostos fenólicos, além de apresentar propriedades tecnológicas favoráveis. Assim, objetivou-se avaliar o potencial prebiótico da farinha de feijão-de-corda verde (FFCV) e sua aplicação, em associação à maltodextrina e à pectina, como componente da matriz encapsulante de *Limosilactobacillus reuteri*, por meio do método de secagem por atomização, visando à proteção e à manutenção da viabilidade do probiótico em condições adversas. A FFCV foi caracterizada quanto aos seus parâmetros físicos e químicos, à resistência à digestão gastrointestinal *in vitro* e à capacidade de estimular o crescimento de *Lmb. reuteri* por meio de ensaios de fermentação utilizando concentração de 20 g/L. Posteriormente, a FFCV foi incorporada, em diferentes proporções, a sistemas encapsulantes contendo maltodextrina e pectina. A FFCV, tanto na forma nativa quanto digerida, apresentou resistência ao processo digestivo, promoveu crescimento seletivo de *Lmb. reuteri*, com escores positivos de atividade prebiótica variando de 0,88 a 1,23, além da manutenção da viabilidade celular entre 8,45 e 8,48 Log₁₀ UFC/mL e da produção de ácidos orgânicos associados a um perfil fermentativo favorável, comparável ao de frutooligossacarídeo, utilizado como prebiótico de referência. As microcápsulas apresentaram eficiência de encapsulamento superior a 78 % e características físicas e químicas compatíveis com a formação de sistemas encapsulantes, sendo observado que o aumento da proporção de FFCV e a consequente redução da maltodextrina promoveram alterações nas propriedades dos sistemas obtidos. Além disso, as microcápsulas contendo FFCV promoveram maior proteção de *Lmb. reuteri* em condições gastrointestinais *in vitro*, com taxa de sobrevivência de 80 %, em comparação a 40 % para as células livres. Os resultados evidenciam que a FFCV possui potencial para atuar tanto como substrato prebiótico quanto como componente de matrizes encapsulantes à base de maltodextrina, contribuindo para a proteção de *Lmb. reuteri* e indicando sua aplicabilidade no desenvolvimento de sistemas simbióticos destinados a alimentos funcionais.

Palavras-chave: Alimentos funcionais; Leguminosas; Atividade prebiótica; Probióticos; Simbióticos; Microcápsulas.

RAMOS, M. S. **Prebiotic potential of green cowpea flour and its application in the encapsulation of *Limosilactobacillus reuteri***. Itapetinga-BA: UESB, 2026. 139 p. (Thesis - Doctorate in Food Engineering and Science).

ABSTRACT

The growing demand for functional products has driven the investigation of new sources of bioactive compounds and ingredients with prebiotic potential for application in synbiotic systems. In this context, cowpea (*Vigna unguiculata*) stands out as a promising alternative due to its chemical composition, rich in non-digestible carbohydrates, dietary fiber, and phenolic compounds, as well as its favorable technological properties. Thus, this study aimed to evaluate the prebiotic potential of green cowpea flour (GCF) and its application, in combination with maltodextrin and pectin, as a component of the encapsulating matrix for *Limosilactobacillus reuteri*, using the spray-drying method, with the aim of protecting and maintaining probiotic viability under adverse conditions. GCF was characterized regarding its physicochemical parameters, resistance to *in vitro* gastrointestinal digestion, and ability to stimulate the growth of *Lmb. reuteri* through fermentation assays using a concentration of 20 g/L. Subsequently, GCF was incorporated at different proportions into encapsulating systems containing maltodextrin and pectin. GCF, both in its native and digested forms, showed resistance to the digestive process and promoted selective growth of *Lmb. reuteri*, with positive prebiotic activity scores ranging from 0.88 to 1.23, in addition to maintaining cell viability between 8.45 and 8.48 Log₁₀ CFU/mL and promoting the production of organic acids associated with a favorable fermentation profile, comparable to that of fructooligosaccharide, used as a reference prebiotic. The microcapsules showed an encapsulation efficiency greater than 78 % and physicochemical characteristics compatible with the formation of encapsulating systems. An increase in the proportion of GCF and the consequent reduction in maltodextrin promoted changes in the properties of the resulting systems. Furthermore, microcapsules containing GCF provided greater protection of *Lmb. reuteri* under *in vitro* gastrointestinal conditions, with a survival rate of 80 %, compared with 40 % for free cells. The results demonstrate that GCF has potential to act both as a prebiotic substrate and as a component of maltodextrin-based encapsulating matrices, contributing to the protection of *Lmb. reuteri* and indicating its applicability in the development of synbiotic systems for functional food applications.

Keywords: Functional foods; Legumes; Prebiotic activity; Probiotics; Synbiotics; Microcapsules.

CAPÍTULO I

Introdução geral

Revisão bibliográfica

1. Introdução geral

O trato gastrointestinal humano configura-se como um ecossistema complexo, no qual a diversidade e as atividades metabólicas da microbiota são influenciadas pelos nutrientes disponíveis. Grande parte das variações na composição da microbiota intestinal é induzida pela dieta, o que torna essencial compreender como diferentes ingredientes alimentares podem favorecer o equilíbrio e a funcionalidade desse conjunto microbiano (Ramos & Martín, 2021).

Os alimentos funcionais contribuem para regular a microbiota intestinal e destacam-se por alinharem nutrientes essenciais para o organismo a compostos bioativos capazes de auxiliar na prevenção e no controle de doenças crônicas não transmissíveis, como obesidade, diabetes, doenças cardiovasculares e alguns tipos de câncer. Entre esses componentes, os prebióticos, probióticos e simbióticos têm recebido crescente atenção nas áreas científica, alimentícia e da saúde, devido ao seu potencial de modular a microbiota intestinal e promover benefícios fisiológicos ao hospedeiro (Banwo et al., 2021; Ashaolu, 2020).

Prebióticos são ingredientes alimentares não digeríveis que atuam como fonte seletiva de carbono fermentável para o crescimento e/ou atividade metabólica de microrganismos benéficos no intestino, promovendo alterações específicas na composição e na atividade da microbiota intestinal (Roy & Dhaneshwar, 2023). Probióticos, por sua vez, são definidos como microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (Maftei et al., 2024). Já os simbióticos resultam da combinação de prebióticos e probióticos em um único sistema, de modo que o componente prebiótico favorece a sobrevivência, a colonização e a atividade metabólica do probiótico ao longo do trato gastrointestinal. A associação entre esses dois componentes tem sido considerada uma estratégia promissora para potencializar os efeitos benéficos sobre a microbiota intestinal e ampliar as aplicações de ingredientes funcionais em alimentos (Akutko & Stawarski, 2021).

O interesse científico e industrial por prebióticos, probióticos e simbióticos tem estimulado tanto a busca por novas formulações quanto a identificação de novas fontes alimentares com potencial funcional. Essa procura visa expandir as alternativas disponíveis, valorizar subprodutos agroindustriais e impulsionar inovações tecnológicas voltadas ao desenvolvimento de alimentos funcionais e de sistemas de liberação de compostos bioativos (Baker et al., 2022; Cunningham et al., 2021).

Entre as estratégias tecnológicas empregadas para melhorar a estabilidade e a funcionalidade de probióticos em alimentos e sob condições adversas, o encapsulamento tem se destacado como uma abordagem eficaz. O processo consiste no aprisionamento do microrganismo em um material de revestimento protetor, que atua como barreira entre o ambiente externo e os probióticos em seu interior. Essa técnica permite proteger os microrganismos durante o processamento, o armazenamento e a passagem pelo trato gastrointestinal, contribuindo para a manutenção de sua viabilidade e funcionalidade até o local de ação desejado (Aspri et al., 2020).

Diversos métodos têm sido desenvolvidos para encapsular bactérias probióticas, como gelificação iônica, liofização e secagem por atomização. No entanto, a eficiência desses processos depende diretamente das propriedades dos materiais de revestimento empregados (Abbas et al., 2023; Sun et al., 2023). Quando matrizes de origem vegetal contendo compostos prebióticos são utilizadas como materiais de revestimento no encapsulamento de probióticos, obtêm-se sistemas capazes de promover simultaneamente a proteção física e o fornecimento de substratos fermentáveis, favorecendo a colonização e a atividade metabólica dos microrganismos encapsulados, caracterizando um sistema simbiótico de maior eficiência (Agriopoulou et al., 2023).

Entre as matrizes de origem vegetal, as leguminosas são apontadas como candidatas promissoras para intervenções dietéticas e para o desenvolvimento de produtos alimentícios funcionais, devido à sua composição nutricional favorável ao crescimento de microrganismos benéficos no intestino, além de sua ampla disponibilidade em diferentes regiões do mundo (Kadyan et al., 2022).

Na região Nordeste do Brasil o feijão-de-corda (*Vigna unguiculata* L. Wap) destaca-se como uma das leguminosas mais cultivadas e consumidas, representando uma importante fonte nutricional e econômica (Maia, 2023). Essa leguminosa apresenta elevados teores de fibras dietéticas, oligossacarídeos fermentáveis, amido resistente e compostos bioativos, além de um conjunto de propriedades tecnológicas favoráveis, como capacidade de absorção de água, atividade emulsificante, gelificação, aumento de viscosidade e formação de filmes comestíveis (Abebe & Alemayehu, 2022; Gharibzahedi & Smith, 2021). Tais atributos tornam o feijão-de-corda promissor tanto para estimular, de forma seletiva, o crescimento de bactérias benéficas quanto para sua aplicação como material de revestimento no encapsulamento de

probióticos, protegendo-os durante etapas críticas de processamento e digestão (Islam et al., 2023).

Diante desse contexto, torna-se relevante aprofundar o conhecimento sobre as propriedades funcionais e tecnológicas de matrizes alimentares não convencionais que possam atuar como ingredientes prebióticos e materiais de revestimento em sistemas de encapsulamento simbiótico. Assim, esta tese foi estruturada em dois estudos principais: o primeiro, voltado à avaliação do potencial prebiótico da farinha de feijão-de-corda verde (FFCV), e o segundo, à investigação de sua aplicação como material de revestimento no encapsulamento de *Limosilactobacillus reuteri*.

2. Revisão bibliográfica

2.1. Microbiota intestinal

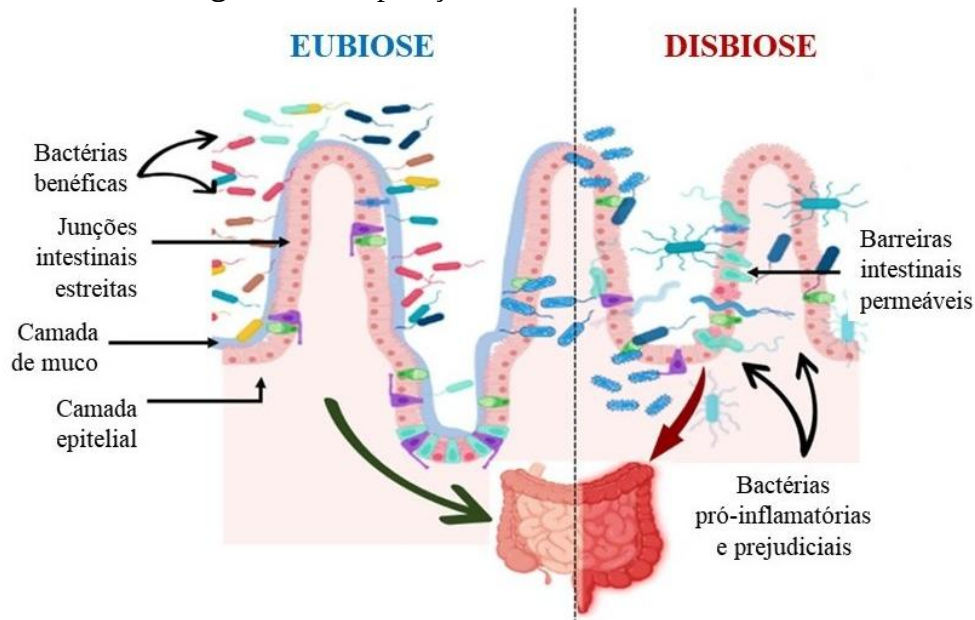
A microbiota intestinal humana é um ecossistema microbiano diverso e complexo que coloniza o trato gastrointestinal e desempenha funções essenciais na manutenção da integridade da barreira mucosa e na modulação da resposta imunológica do hospedeiro. Esse conjunto microbiano é predominantemente composto por bactérias dos filos Bacteroidetes, Firmicutes, Actinobacteria e Proteobacteria e, em menor proporção, por arqueias, fungos e vírus (Zhang et al., 2022). Porém, a sua composição é única para cada indivíduo e é influenciada por fatores como idade, condições de estresse, hábitos alimentares, uso de medicamentos e estilo de vida (Badgeley et al., 2021).

Apesar de sua complexidade, a microbiota intestinal tende a apresentar estabilidade relativa em sua composição e funcionalidade em condições estáveis do hospedeiro, influenciando processos biológicos, como a digestão e a absorção de nutrientes, a maturação do sistema imunológico, a resistência a patógenos e a regulação do metabolismo energético (Peredo-Lovillo et al., 2020).

As alterações nesse ecossistema podem resultar em desequilíbrio funcional, denominado disbiose, condição associada ao desenvolvimento de doenças infecciosas, metabólicas e imunomediadas, incluindo gastrite, desnutrição, obesidade, diabetes e alergias alimentares (Khan et al., 2020). Por outro lado, a eubiose, estado em que a microbiota se mantém em equilíbrio e estabelece uma relação mutualística com o hospedeiro, favorece a homeostase intestinal e sistêmica, promovendo o bem-estar e prevenindo o surgimento de

enfermidades (Afzaal et al., 2022). Na Figura 1 são destacadas as principais diferenças da disbiose e a eubiose.

Figura 1. Comparação entre eubiose e disbiose.



Fonte: Adaptado de Roy & Dhaneshwar (2023).

Diante da crescente compreensão do papel da microbiota intestinal na promoção da saúde, estratégias voltadas à sua modulação têm sido investigadas. Entre elas, o consumo de alimentos funcionais, especialmente prebióticos e probióticos, destaca-se por sua capacidade de influenciar positivamente a composição microbiana e de gerar benefícios intestinais e sistêmicos (Apalowo et al., 2024).

2.2. Alimentos funcionais

Embora o termo alimento funcional seja amplamente utilizado na mídia e na literatura científica, ainda não há uma definição única e universalmente aceita, pois seu conceito varia conforme os critérios estabelecidos pelos diferentes órgãos reguladores (Martirosyan & Sing, 2015). O conceito teve origem no Japão, na década de 1980, quando autoridades de saúde reconheceram que determinados alimentos, além de suas funções nutricionais básicas, apresentavam efeitos fisiológicos benéficos comprovados, o que culminou na criação da categoria regulamentada de “Foods for Specified Health Use (FOSHU)” (Reque & Brandelli, 2021).

No Brasil, a regulamentação das alegações de propriedades funcionais é responsabilidade da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que, por meio da Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999, estabelece que alimentos ou ingredientes com propriedades funcionais podem, além de suas funções nutricionais básicas, produzir efeitos metabólicos e/ou fisiológicos benéficos à saúde, desde que sejam seguros para consumo sem supervisão médica (Brasil, 1999).

Em âmbito internacional, o Centro de Alimentos Funcionais ampliou essa definição ao considerar que os alimentos funcionais são produtos naturais ou processados que contêm compostos biologicamente ativos, que, em quantidades eficazes e não tóxicas, fornecem benefícios à saúde clinicamente comprovados e validados por meio de biomarcadores específicos relacionados à prevenção ou à redução do risco de doenças crônicas (Martirosyan & Miller, 2018; Martirosyan & Sing, 2015).

Do ponto de vista conceitual, os alimentos funcionais são classificados em três categorias principais: *i*) ingredientes alimentares, que correspondem a componentes bioativos isolados com propriedades benéficas à saúde, incluindo probióticos, prebióticos, fibras alimentares, catequinas, licopeno e outros compostos fitoquímicos; *ii*) alimentos de uso convencional, aqueles naturais ou não modificados, que se apresentam em sua forma integral e possuem compostos bioativos intrínsecos à sua matriz, como frutas, vegetais, leguminosas, grãos, peixes e laticínios; e *iii*) alimentos modificados, que são produtos reformulados, enriquecidos ou fortificados com nutrientes ou substâncias específicas, com o objetivo de potencializar seus efeitos promotores da saúde. Entre os exemplos mais comuns dessa categoria, destacam-se bebidas fortificadas com cálcio, antioxidantes e vitaminas, pães enriquecidos com cálcio e folato, além de produtos acrescidos de fibras vegetais, esteróis e ácidos graxos ômega-3 (Ma et al., 2026; Essa et al., 2023).

Os benefícios atribuídos aos alimentos funcionais incluem a prevenção e o controle de doenças crônicas não transmissíveis, como obesidade, diabetes, doenças cardiovasculares e determinados tipos de câncer. Entretanto, sua eficácia depende de fatores como a biodisponibilidade dos compostos ativos, a estabilidade na matriz alimentar, bem como das características fisiológicas individuais dos consumidores (Ashaolu, 2020). Dessa forma, a comprovação científica, por meio de estudos clínicos e toxicológicos, é essencial para validar alegações de saúde e garantir a segurança do consumidor (Silva et al., 2020).

Paralelamente, mudanças no perfil epidemiológico global e a maior conscientização sobre a relação entre alimentação e saúde têm impulsionado a expansão do mercado de alimentos funcionais. Consumidores demonstram interesse crescente por alimentos nutritivos, sensorialmente agradáveis, sustentáveis e associados à promoção da saúde intestinal e do bem-estar geral. Esse comportamento tem estimulado a indústria alimentícia a desenvolver formulações inovadoras alinhadas ao conceito de rótulo limpo e à valorização de ingredientes de origem vegetal (Kowalska et al., 2024; Ahmad et al., 2022; Karelakis et al., 2020).

No entanto, apesar do cenário promissor, o desenvolvimento e a aceitação de alimentos funcionais constituem um processo complexo, dispendioso e, muitas vezes, lento, uma vez que dependem de fatores como custos, segurança, respaldo científico, características sensoriais, além da percepção e da confiança do consumidor (Baker et al., 2022).

Entre os alimentos funcionais, prebióticos e probióticos destacam-se como os mais estudados e são reconhecidos por sua capacidade de modular a microbiota intestinal e promover benefícios sistêmicos ao hospedeiro. Sob a perspectiva tecnológica, diversos avanços têm sido direcionados ao aumento da estabilidade e da viabilidade desses compostos durante o processamento e na passagem pelo trato gastrointestinal (Ashaolu, 2020; Granato et al., 2020).

As principais estratégias empregadas incluem: a microencapsulação de microrganismos probióticos e sua incorporação em diferentes matrizes alimentares, incluindo produtos não lácteos; bem como a investigação de novas fontes de ingredientes com potencial prebiótico, para atuarem como substratos seletivos para microrganismos benéficos da microbiota intestinal e participarem do desenvolvimento de revestimentos comestíveis e sistemas de encapsulamento capazes de favorecer o aprisionamento e liberação controlada de bactérias probióticas (Costa et al., 2025; Sultana et al., 2023; Gómez-García et al., 2022; Moumita & Das, 2022; Granato et al., 2020).

2.3. Prebióticos

A Associação Científica Internacional para Probióticos e Prebióticos (ISAPP) define prebióticos como compostos alimentares não digeríveis que, ao alcançarem o cólon, são utilizados seletivamente por microrganismos benéficos do hospedeiro, promovendo efeitos positivos à saúde (Gibson et al., 2017).

A ingestão regular de prebióticos tem sido associada a diversos efeitos benéficos, incluindo a modulação da microbiota intestinal, o fortalecimento da resposta imunológica e o aumento da produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCCs), metabólitos considerados essenciais para a manutenção da saúde intestinal (You et al., 2022).

Os AGCC, principalmente acetato, propionato e butirato, representam cerca de 90 % dos ácidos graxos produzidos pelas bactérias colônicas e desempenham funções importantes na fisiologia do hospedeiro (Cong et al., 2022; Xiong et al., 2022). O butirato constitui a principal fonte de energia dos colonócitos e contribui para a manutenção da integridade da barreira intestinal. O propionato, por sua vez, está relacionado à regulação da gliconeogênese hepática e à redução da absorção de colesterol. Já o acetato, além de atuar como substrato para a síntese de lipídios, também influencia positivamente a microbiota intestinal ao estimular o crescimento de bactérias benéficas, como *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* (Zhang et al., 2023).

Embora o conceito de prebiótico tenha sido introduzido há quase três décadas, os desafios relacionados à identificação, caracterização e validação desses compostos ainda persistem. Para que um ingrediente seja considerado prebiótico, recomenda-se que alguns critérios sejam atendidos, incluindo: i) apresentar composição química bem definida e caracterizada; ii) ser utilizado seletivamente por microrganismos residentes no hospedeiro, comprovado por alterações específicas na composição ou função da microbiota; iii) demonstrar efeitos benéficos à saúde por meio de estudos controlados, em dosagens ou porções adequadas, com registro de segurança e reprodutibilidade; iv) possuir mecanismos de ação plausível que vincule a utilização seletiva do substrato aos efeitos fisiológicos observado, idealmente sustentada por análises estatísticas (Hutkins et al., 2025).

Entre os prebióticos já consagrados destacam-se os oligossacarídeos não digeríveis, como a inulina, os galactooligosacarídeos (GOS) e os frutooligosacarídeos (FOS), além do amido resistente (You et al., 2022). No entanto, o crescente interesse por alimentos funcionais tem estimulado a busca por novas fontes de compostos com potencial prebiótico, incluindo farinhas obtidas a partir de matrizes vegetais, como frutas, cereais e leguminosas, bem como subprodutos agroindustriais e outras fontes de fibras alimentares pouco exploradas. Essa abordagem visa ampliar a diversidade de ingredientes funcionais disponíveis, valorizar matérias-primas locais e contribuir para o desenvolvimento de produtos inovadores com

maior valor agregado (Garrido-Cruz et al., 2023; Calvete-Torre et al., 2022; Utami et al., 2022; De Albuquerque et al., 2020; Silva et al., 2020; Khangwal & Shukla, 2019).

2.4. Leguminosas

Entre as matrizes vegetais investigadas como fontes de compostos com potencial prebiótico, as leguminosas têm recebido atenção crescente devido à sua composição alimentar, caracterizada por elevados teores de carboidratos complexos e fibras alimentares. Além disso, contêm compostos bioativos capazes de resistir à digestão no trato gastrointestinal superior e alcançar o cólon, onde podem ser fermentados pela microbiota intestinal, contribuindo para a produção de metabólitos benéficos ao hospedeiro, como os AGCC (Yanni et al., 2023; Ferreira et al., 2021).

Os atributos nutricionais das leguminosas as tornam candidatas promissoras para aplicações dietéticas e para o desenvolvimento de produtos alimentícios funcionais. O consumo regular desses alimentos tem sido associado à redução do risco de doenças cardiovasculares e de alguns tipos de câncer, além de contribuir para o controle do peso corporal, promover maior saciedade e auxiliar na redução da glicemia (Yanni et al., 2022; Śmiglak-Krajewska, 2020; Gilham et al., 2018).

Além dos aspectos nutricionais, as leguminosas têm importância agrônômica e ambiental, destacando-se pela grande capacidade de adaptação a diferentes condições climáticas e pelo baixo custo de produção. Essas culturas encontram-se distribuídas em praticamente todos os continentes, exceto na Antártida (Mathesius, 2022).

A Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) reconhece diversas espécies de leguminosas de importância agrônômica e nutricional, incluindo ervilha, grão-de-bico, lentilha e feijão (Kadyan et al., 2022).

2.4.1. Feijão-de-corda (*Vigna unguiculata* L. Walp)

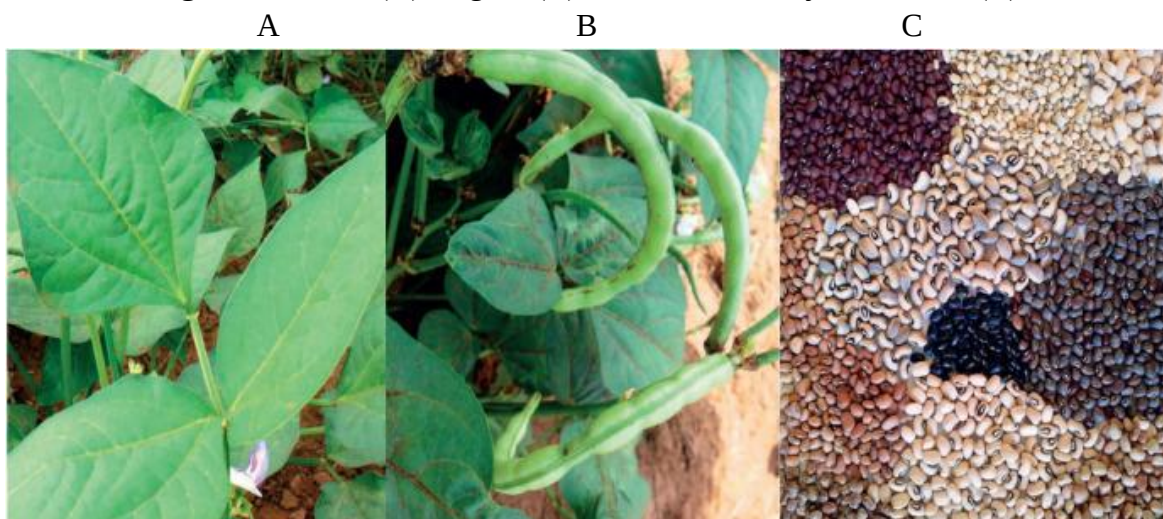
No Brasil, o feijão é a leguminosa mais consumida e um componente principal da dieta da população, sendo a variedade *Vigna unguiculata* L. Wap (feijão-de-corda) uma das mais tradicionais na região Nordeste, onde se concentram as maiores áreas de cultivo, com produção de 1,2 milhão de hectares, especialmente nos estados do Ceará, Piauí, Bahia e Maranhão. Embora faça parte do hábito alimentar da população nordestina há milhares de

anos, apenas nas últimas décadas seu potencial nutricional e funcional passou a ser mais investigado pela comunidade científica (Maia, 2023).

O feijão-de-corda, também conhecido como feijão-caupi ou feijão-fradinho, é uma leguminosa originária do continente africano, cultivada em diferentes regiões do mundo, com destaque para áreas tropicais e subtropicais, onde outras leguminosas apresentam desempenho produtivo limitado (Ogbole et al., 2023).

Essa espécie é considerada uma cultura multifuncional, uma vez que diferentes partes da planta, incluindo sementes, vagens e folhas, podem ser utilizadas para alimentação humana e animal (Figura 2). As sementes podem ser consumidas inteiras ou processadas em farinha e empregadas na elaboração de diferentes produtos alimentícios, especialmente em preparações de panificação, enquanto as folhas podem ser usadas como hortaliças (Duraipandian et al., 2022).

Figura 2. Folhas (A), vagens (B) e sementes do feijão-de-corda (C).



Fonte: Abebe & Alemayehu (2022).

Entre as diferentes partes da planta, as sementes de feijão-de-corda, tanto no estágio verde quanto maduras, representam a fração de maior relevância para o consumo humano, apresentando composição nutricional relevante. Destacam-se pelo elevado teor de carboidratos ($\pm 60\%$), constituídos majoritariamente por amido resistente e por outros polissacarídeos complexos, além de menores quantidades de açúcares simples. O teor proteico também é elevado ($\pm 25\%$), sendo representado por globulinas, albuminas e glutelinas em maior proporção, enquanto as prolaminas estão presentes em menor proporção. Em relação à fração lipídica, os grãos apresentam baixo teor de lipídeos ($\pm 3\%$), compostos principalmente

por triglicerídeos, fosfolipídeos, monoglicerídeos, diglicerídeos, ácidos graxos livres e esteróis (Abebe & Alemayehu, 2022; Rengadu et al., 2020).

O feijão-de-corda constitui também uma importante fonte de fibras alimentares, com predominância da fração insolúvel ($\pm 13\%$) em relação à fração solúvel ($\pm 1\%$). Também se destaca como fonte de minerais essenciais, incluindo cálcio, ferro, fósforo, magnésio, potássio e zinco, além de vitaminas, como A, C, tiamina, riboflavina, niacina, B6 e ácido pantotênico. Adicionalmente, apresenta compostos fenólicos, entre eles taninos, flavonoides e ácidos fenólicos, reconhecidos por suas propriedades antioxidantes e por potenciais efeitos benéficos à saúde (Kebede et al., 2020; Da Silva et al., 2018).

Os elevados teores de amido resistente, de polissacarídeos complexos e de fibras alimentares conferem ao feijão-de-corda potencial como fonte de compostos com atividade prebiótica. Esses substratos podem resistir à digestão gastrointestinal e promover o crescimento seletivo de bactérias benéficas, favorecendo a produção de AGCC, metabólitos que desempenham papel significativo na manutenção da função fisiológica normal dos seres humanos (Kadyan et al., 2022; Rengadu et al., 2020).

Além do seu valor nutricional e funcional, o feijão-de-corda apresenta propriedades tecnológicas relevantes, atribuídas principalmente à presença de amido e de proteínas estruturais. Entre essas propriedades, destacam-se a elevada capacidade de retenção de água e óleo, a capacidade emulsificante e a estabilidade físico-química da emulsão, a aptidão para a formação e estabilização de espuma, bem como o potencial de formação de géis sob determinadas condições de pH e de aquecimento (Sardar et al., 2024; Gharibzahedi & Smith, 2021).

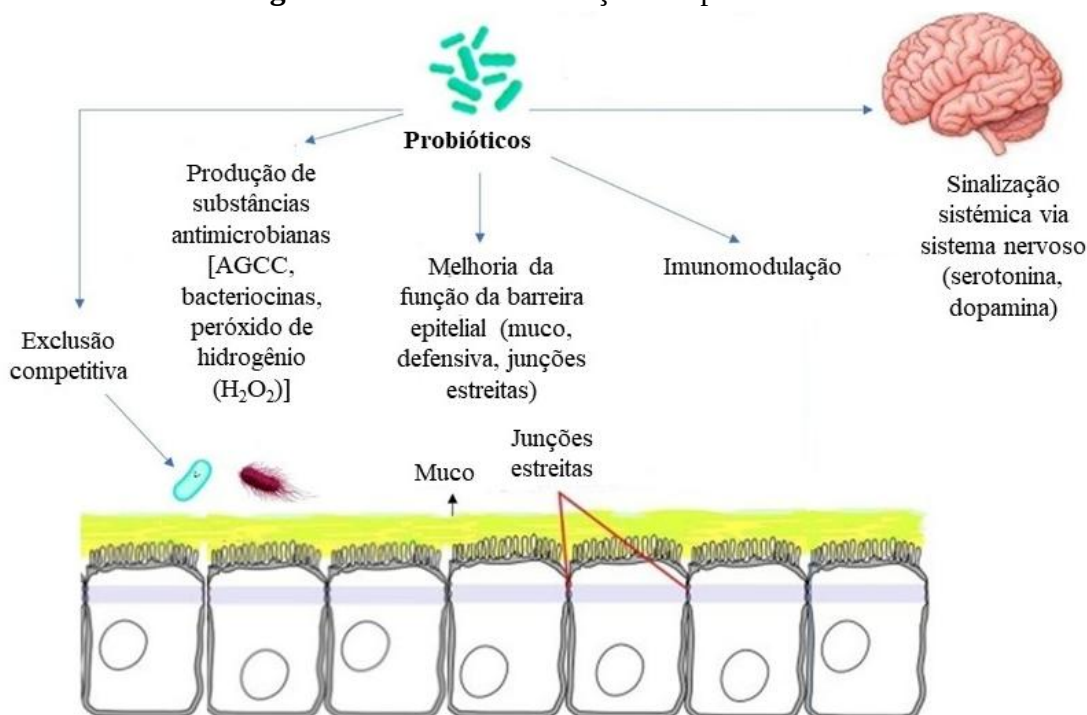
Em relação às propriedades funcionais, a presença de frações com potencial efeito prebiótico, associada à capacidade de formação de géis e de estruturas coloidais, torna o feijão-de-corda um material promissor para aplicações em sistemas alimentícios estruturados. Nesse contexto, matrizes derivadas de leguminosas têm sido avaliadas como materiais encapsulantes de microrganismos probióticos, nas quais podem desempenhar dupla função: atuar como barreira protetora contra condições adversas de processamento e digestão, ao mesmo tempo em que fornecem substratos fermentáveis capazes de favorecer a atividade metabólica da microbiota intestinal (Islam et al., 2023; Yang et al., 2022; Oyeyinka et al., 2021).

2.5. Probióticos

De acordo com a Organização das Nações Unidas para Alimentação e a Agricultura (FAO) e a Organização Mundial da Saúde (OMS), probióticos são microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (Latif et al., 2023).

Os mecanismos de ação dos probióticos envolvem múltiplas interações com o organismo do hospedeiro. Entre elas, destacam-se a modulação da microbiota intestinal, o fortalecimento da barreira mucosa, o antagonismo direto contra microrganismos patogênicos, a inibição da aderência bacteriana e da capacidade de invasão no epitélio intestinal, o estímulo às respostas imunológicas e a regulação do sistema nervoso central (Figura 3) (Stavropoulou & Bezirtzoglou, 2020).

Figura 3. Mecanismos de ação dos probióticos.



Fonte: Adaptado de Latif et al. (2023).

Os benefícios atribuídos a esses microrganismos abrangem a modulação do sistema imunológico, o controle e a redução dos níveis de colesterol sérico, a prevenção de infecções intestinais, a supressão da diarreia associada ao uso de antibióticos, a diminuição dos sintomas de intolerância à lactose, a mitigação do risco de câncer colorretal e o aumento do valor nutricional de produtos alimentícios (Zendeboodi et al., 2020).

A crescente evidência científica sobre os efeitos benéficos dos probióticos tem impulsionado o mercado global de produtos que contêm esses microrganismos. As vendas de alimentos e suplementos rotulados como probióticos aumentaram consideravelmente desde o início da década de 1990. Em 2022, o mercado global de probióticos atingiu cerca de US\$ 58 bilhões, com projeções de superar US\$ 85 bilhões até 2027 (Shah et al., 2024). Esse crescimento tem resultado na disponibilidade de produtos contendo probióticos, como iogurtes, leites fermentados, kefir, kombucha, vegetais fermentados e suplementos alimentares comercializados nas formas líquidas, encapsuladas ou em pó (Depoorter & Vandenplas, 2021; Yong et al., 2020).

Apesar da expansão do mercado e do crescimento do consumo desses produtos, a dose mínima eficaz de probióticos ainda não foi totalmente estabelecida, pois os efeitos dependem da espécie microbiana, da matriz alimentar e das condições de consumo. Entretanto, a literatura sugere que concentrações superiores a 10^6 unidades formadoras de colônias (UFC) por mL ou por g de alimento são necessárias para assegurar que quantidades adequadas de microrganismos viáveis cheguem ao cólon humano e exerçam seus efeitos benéficos (Holkem et al., 2023; Grom et al., 2020).

Entre os microrganismos com propriedades probióticas mais comumente reconhecidos estão as bactérias ácido-láticas, especialmente as do gênero *Lactobacillus*. Esses microrganismos são naturalmente encontrados no organismo humano e têm elevada relevância tecnológica na indústria alimentícia (Sharifi-Rad et al., 2020).

2.5.1. Gênero *Lactobacillus*

O gênero *Lactobacillus* é composto por bactérias Gram-positivas, fermentadoras, anaeróbicas facultativas ou microaerofílicas, não formadoras de esporos, pertencentes ao filo *Firmicutes*, classe *Bacilli*, ordem *Lactobacillales* e família *Lactobacillaceae* (Kullar et al., 2023; Li et al., 2023).

Tradicionalmente, o gênero *Lactobacillus* era reconhecido por sua diversidade, com mais de 260 espécies com variabilidade fenotípica, ecológica e genotípica. Em 2020, avanços em análises filogenômicas levaram à reclassificação desse grupo, resultando na redistribuição das espécies em 25 gêneros distintos, incluindo *Lacticaseibacillus*, *Lactiplantibacillus* e *Limosilactobacillus*, com o objetivo de refletir, de forma mais precisa, suas relações evolutivas e características fisiológicas (Zheng et al., 2020).

Os microrganismos desse grupo convertem carboidratos em ácido lático por diferentes vias fermentativas. Espécies homofermentativas produzem predominantemente ácido lático, enquanto as heterofermentativas, facultativas e obrigatórias, geram, além do ácido lático, metabólitos como etanol, ácido acético e dióxido de carbono (Dempsey & Corr, 2022). Essa capacidade metabólica confere ao gênero um papel central na produção de alimentos fermentados, bem como na saúde intestinal, uma vez que o ácido lático e outros metabólitos exercem efeitos benéficos sobre o ecossistema microbiano e a integridade da mucosa intestinal (Bangar et al., 2022).

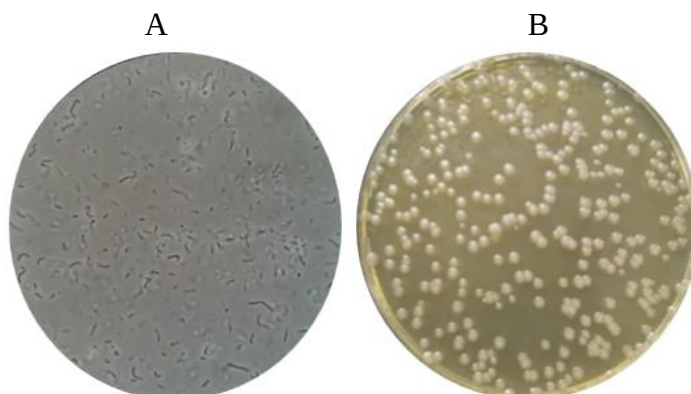
Devido à sua segurança microbiológica, estabilidade tecnológica e efeitos benéficos comprovados à saúde, espécies do gênero *Lactobacillus* são utilizadas como culturas iniciadoras na produção de alimentos fermentados e como suplementos dietéticos. Dentre as espécies mais empregadas em aplicações probióticas, destacam-se *Lactobacillus acidophilus*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lactocaseibacillus rhamnosus* e *Limosilactobacillus reuteri* (Shah et al., 2024; Kerry et al., 2018).

No entanto, cada cepa pode atuar por meio de diferentes mecanismos de ação e apresentar características genotípicas e fenotípicas específicas. Nesse contexto, cepas de *Limosilactobacillus reuteri* (*Lmb. reuteri*) têm despertado grande interesse devido às suas propriedades imunomoduladoras, antimicrobianas, anti-inflamatórias e metabólicas (Berenice et al., 2026).

2.5.1.1. Espécie *Lmb. reuteri*

A espécie *Lmb. reuteri* é formada por uma bactéria anaeróbia facultativa, heterofermentativa obrigatória, capaz de colonizar diferentes locais do corpo humano, incluindo o trato gastrointestinal, o trato urinário, a pele e o leite materno. A presença natural nesses ambientes indica uma relação simbiótica com o hospedeiro e contribui para o reconhecimento como microrganismo probiótico de relevância clínica e biotecnológica (Figura 4) (Shah et al., 2024).

Figura 4. Morfologia celular de *Lmb. reuteri* observada em microscópio (A); morfologia das colônias de *Lmb. reuteri* em ágar Man-Rogosa-Sharpe (MRS) (B).



Fonte: Ahmad et al. (2022).

Lmb. reuteri desempenha um papel importante na modulação das respostas imunológicas e na manutenção da homeostase intestinal. Estudos demonstram que essa espécie pode influenciar a composição da microbiota intestinal, estimular a produção de metabólitos benéficos e contribuir para a preservação da integridade estrutural e funcional da barreira intestinal. Além disso, apresenta capacidade de reduzir processos inflamatórios e de proteger células intestinais contra danos associados ao estresse oxidativo, fatores que reforçam seu potencial para promover a saúde gastrointestinal (Yu et al., 2023).

Um dos mecanismos mais característicos de *Lmb. reuteri* é a produção de substâncias antimicrobianas, entre as quais se destacam ácidos orgânicos, etanol e reuterina. A produção desses metabólitos contribui para a inibição da colonização por microrganismos patogênicos e para a modulação da microbiota intestinal, favorecendo o equilíbrio do ecossistema microbiano (Mu et al., 2018).

Devido às propriedades biológicas e funcionais únicas, *Lmb. reuteri* tem sido investigado em diferentes contextos clínicos, tecnológicos e industriais quanto à sua segurança, viabilidade e desempenho funcional em modelos experimentais *in vivo* e *in vitro* (Berenice et al., 2026).

Estudos clínicos demonstram sua eficácia na prevenção e no tratamento de diferentes distúrbios gastrointestinais, incluindo diarreia infecciosa, diarreia associada ao uso de antibióticos, constipação e cólicas. Além de apresentar efeitos positivos na modulação da resposta imunológica e na redução de inflamações intestinais. Esses resultados demonstram sua segurança e eficácia em diferentes grupos populacionais, incluindo bebês, crianças e

adultos (Peng et al., 2023; Consortium et al., 2023; Saviano et al., 2021; Žaja et al., 2021; Mu et al., 2018).

Em aplicações industriais, especialmente no desenvolvimento de alimentos funcionais, *Lmb. reuteri* tem sido utilizado como cultura probiótica em produtos lácteos fermentados, como leites, iogurtes e queijos, frequentemente atuando como cultura adjunta para melhorar as características funcionais e contribuir para a estabilidade microbiológica, auxiliando na inibição de patógenos e microrganismos deteriorantes (Li et al., 2024; Ávila et al., 2017).

Apesar de seus múltiplos benefícios e do grande interesse industrial, tecnológico e nutricional associado a *Lmb. reuteri*, sua aplicação em alimentos e formulações farmacêuticas, bem como a administração oral, enfrenta desafios e limitações durante o processamento, o armazenamento e o trânsito gastrointestinal, que podem comprometer sua biodisponibilidade e funcionalidade (Berenice et al., 2026; Liu et al., 2025).

Durante o processamento industrial, exposições a temperaturas elevadas, desidratação e esforços mecânicos podem reduzir a viabilidade de *Lmb. reuteri*. Já em relação ao consumo, condições de armazenamento não ideais, como umidade, variações de pH e contaminações, continuam a comprometer a sobrevivência celular. Ao serem ingeridos, os probióticos devem resistir à acidez do estômago, à ação das enzimas digestivas e aos sais biliares, para só então alcançar o cólon, estabelecer uma colonização bem-sucedida e exercer suas funções benéficas (Feng et al., 2020).

Para mitigar essas adversidades, o encapsulamento tem se mostrado uma estratégia promissora para proteger e preservar microrganismos probióticos, incluindo *Lmb. reuteri*, sob condições adversas, bem como favorecer sua liberação controlada, em quantidades adequadas, em sítios-alvo específicos do trato gastrointestinal, condição essencial para a manifestação dos efeitos probióticos (Gu et al., 2022; Reque & Brandelli, 2021).

2.6. Encapsulamento como alternativa para melhorar a biodisponibilidade e funcionalidade de microrganismos probióticos

O encapsulamento tem sido descrito como um método para aprisionar temporariamente uma substância ativa em matrizes poliméricas, formando cápsulas que podem variar em escala macro ($>5000\ \mu\text{m}$), micro ($0,2\ \text{a}\ 5000\ \mu\text{m}$) ou nano ($<0,2\ \mu\text{m}$) e

liberá-la em taxas controladas e sob condições específicas, como determinado pH, temperatura ou tempo (Alu'datt et al., 2022; Bah et al., 2020).

De modo geral, o encapsulamento envolve três fases principais. Inicialmente, as células probióticas são incorporadas à matriz encapsulante, que pode apresentar natureza líquida ou sólida. Em seguida, essa matriz carregada de microrganismos é convertida em partículas por meio de dispersão em meio contínuo ou pulverização. Por fim, as partículas formadas são fixadas e fortalecidas por um processo de estabilização, que pode ocorrer por mecanismos físicos (evaporação, solidificação ou coalescência), químicos (polimerização) ou físico-químicos (gelificação) (Reque & Brandelli, 2021).

O encapsulamento é uma das poucas tecnologias que apresentam crescimento contínuo devido ao seu potencial único, à alta versatilidade e à ampla gama de aplicações. Diversos métodos têm sido investigados para o encapsulamento de probióticos, com o objetivo de protegê-los durante o processamento, o armazenamento e o trânsito gastrointestinal. Embora todos visem aumentar a estabilidade e viabilidade celular, diferem quanto aos seus princípios de formação das partículas, às condições operacionais empregadas e às características físico-químicas das cápsulas obtidas (Agriopoulou et al., 2023; Rodrigues et al., 2020).

A escolha do método mais adequado depende de uma análise integrada de múltiplos fatores. Entre eles, destacam-se as particularidades da cepa probiótica, as variáveis operacionais do processo, as propriedades físico-químicas dos biomateriais empregados como matriz de revestimento e o tamanho da partícula desejado, de modo a garantir uma carga microbiana adequada sem comprometer os atributos sensoriais do produto final. Além disso, devem ser considerados o perfil de liberação pretendido, as condições de armazenamento até o momento do consumo e a viabilidade econômica do processo (Koh et al., 2022; Rajam & Subramanian, 2022).

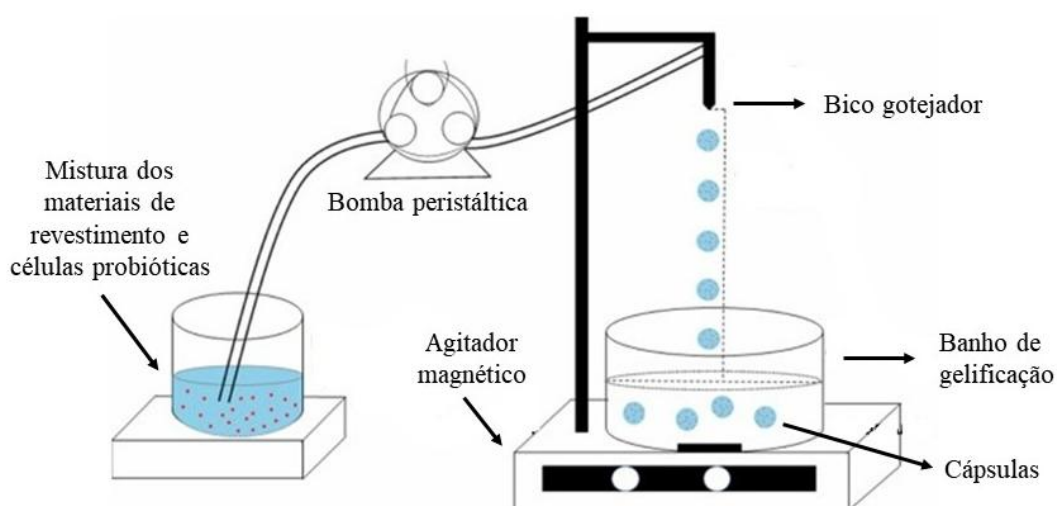
Entre as diversas estratégias desenvolvidas para o encapsulamento de probióticos, destacam-se a gelificação iônica, a liofilização e a secagem por atomização como as mais amplamente empregadas. Embora outros métodos também sejam descritos na literatura, seu uso é relativamente mais restrito em comparação às três abordagens principais (Berenice et al., 2026; Mahmoud et al., 2020).

2.6.1. Encapsulamento de probióticos por gelificação iônica

A gelificação iônica, também conhecida como extrusão, é um método amplamente empregado para o encapsulamento de probióticos devido ao baixo custo e à ausência de exigências de temperaturas elevadas ou de solventes prejudiciais à viabilidade microbiana (Cedran et al., 2025; Cid-Córdoba et al., 2025; Ganje et al., 2024; Rojas-Muñoz et al., 2023; Rodrigues et al., 2022; Romero-Chapol et al., 2022).

Nesse processo, as células probióticas são misturadas ao material de revestimento e a solução resultante é forçada, gota a gota, por meio de um bico ou de uma seringa, diretamente em um banho de gelificação, onde ocorre a formação imediata das cápsulas (Figura 5) (How et al., 2022).

Figura 5. Esquema do encapsulamento de probióticos por gelificação iônica.



Fonte: Adaptado de Sultana et al. (2022).

Geralmente, as cápsulas formadas por esse método apresentam diâmetro entre 2 e 5 mm, e sua dimensão e morfologia dependem de fatores como a viscosidade da solução encapsulante, o diâmetro do bico utilizado, a distância entre o bico e a solução de gelificação, bem como o tempo de exposição ao agente endurecedor (Altamirano-Ríos et al., 2022).

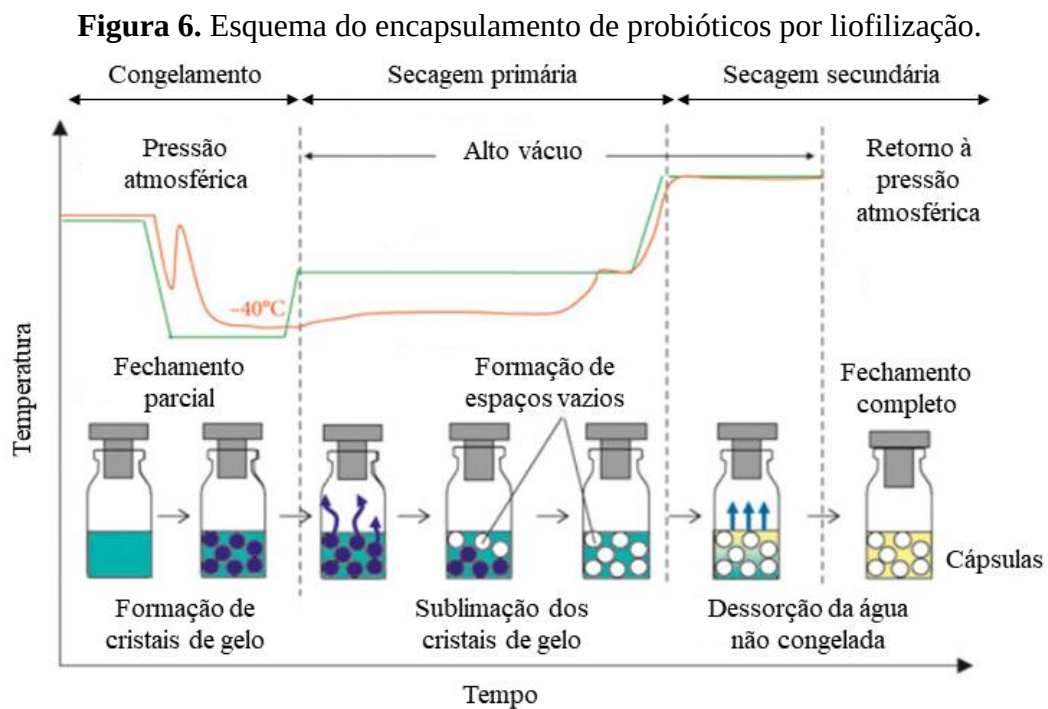
As principais vantagens da gelificação iônica incluem a facilidade operacional, o baixo custo de implementação, a ausência de necessidade de equipamentos sofisticados e a alta taxa de viabilidade celular após o encapsulamento. Porém, o método apresenta desvantagens relacionadas à baixa taxa de produção e à tendência à formação de cápsulas

relativamente grandes, o que pode restringir sua aplicação em formulações que exigem partículas menores (Sultana et al., 2022).

2.6.2. Encapsulamento de probióticos por liofilização

A liofilização, também conhecida como *freeze-drying*, é uma das técnicas mais empregadas para o encapsulamento e a preservação de microrganismos probióticos devido à sua elevada capacidade de manter a viabilidade celular durante o processamento e o armazenamento, além da facilidade de transporte e conservação (Fredua-Agyeman, 2024; Meena et al., 2023; Tyagi et al., 2023; Mahmud et al., 2022; Estilarte et al., 2021).

O método baseia-se na remoção da água do sistema por sublimação, após o congelamento prévio da suspensão contendo células probióticas dispersas em matriz encapsulante. O processo ocorre em três etapas principais: congelamento, secagem primária e secagem secundária. No congelamento, ocorre a formação de cristais de gelo, que promovem a separação da fase aquosa dos sólidos. Na secagem primária, o gelo é removido da amostra por sublimação sob vácuo. Já na secagem secundária, que também requer vácuo na câmara de secagem, a água residual ligada é eliminada, resultando em cápsulas com baixa umidade e atividade de água reduzida (Figura 6) (Kieps & Dembczyński, 2022).



Legenda: Linha verde: temperatura da prateleira; linha laranja: temperatura da amostra.

Fonte: Adptado de Kawasaki et al. (2019).

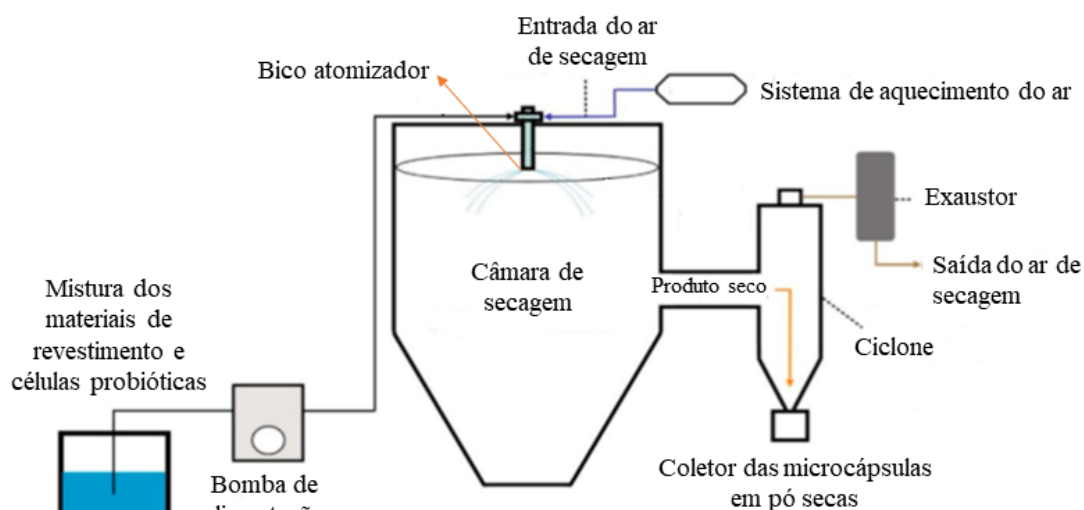
Entre as principais vantagens da liofilização, destacam-se a elevada retenção da viabilidade celular, a estabilidade prolongada durante o armazenamento em temperatura ambiente ou refrigerada, a facilidade de transporte e de manuseio do produto e a compatibilidade com diferentes matrizes alimentares. Além disso, a técnica permite a obtenção de pós com características adequadas para incorporação em alimentos funcionais, suplementos e formulações simbióticas, mantendo a funcionalidade dos microrganismos após a reidratação (Rashidinejad et al., 2022).

Por outro lado, a liofilização apresenta limitações, especialmente relacionadas ao alto custo operacional, ao elevado consumo energético e ao longo tempo de processamento, fatores que podem restringir sua aplicação em larga escala industrial. Adicionalmente, a sobrevivência dos probióticos pode ser significativamente reduzida caso os parâmetros do processo e a escolha dos materiais de revestimento não sejam adequadamente otimizados, uma vez que danos estruturais irreversíveis às células podem ocorrer durante o congelamento e a desidratação (Rajam & Subramanian, 2022).

2.6.3. Encapsulamento de probióticos por secagem por atomização

A secagem por atomização, popularmente conhecida como *spray drying*, é um método consagrado, escalável e eficaz para a microencapsulação de ingredientes alimentícios, como microrganismos probióticos (Costa et al., 2025; Kamble et al., 2024; Costa et al., 2023).

Figura 7. Esquema do encapsulamento de probióticos por secagem por atomização.



Fonte: Adaptado de Pudžiuvėlytė et al. (2025).

O método envolve a dispersão de células probióticas em uma solução de material de revestimento, formando uma mistura fluida, seguida de atomização ou pulverização na câmara de secagem, onde o fluxo de ar quente passa. À medida que as minúsculas gotículas entram em contato com o ar aquecido, o solvente do material de parede evapora rapidamente, resultando na formação de partículas de pó seco (Figura 7) (Furuta & Neoh, 2021).

Entre as vantagens da secagem por atomização, destacam-se a elevada produtividade, os custos operacionais mais baixos em comparação à liofilização, a capacidade de operação contínua e a facilidade de aplicação em escala industrial. Além disso, o método permite o controle preciso da morfologia e do tamanho do pó resultante e contribui para a estabilidade do produto final, devido à baixa atividade de água e ao peso reduzido, fatores que favorecem o prolongamento da vida útil e facilitam o armazenamento e o transporte (Pudžiuvėlytė et al., 2025; Vaselabadi et al., 2025).

Em contrapartida, as principais limitações durante a secagem por atomização estão relacionadas à sensibilidade das células probióticas a altas temperaturas empregadas no processo, o que pode resultar em perdas de viabilidade. A rápida remoção de água também pode provocar estresse osmótico e desidratação celular, o que leva à inativação parcial das bactérias. Assim, apesar de sua versatilidade, o método requer um controle cuidadoso de múltiplos fatores operacionais, pois variações nos parâmetros de alimentação e no interior da câmara de secagem podem afetar o rendimento, a sobrevivência microbiana e a qualidade do produto final (Vaselabadi et al., 2025; Kieps & Dembczyński, 2022).

2.6.4. Materiais de revestimento utilizados para o encapsulamento de probióticos

Embora diferentes métodos de encapsulamento, como gelificação iônica, liofilização e secagem por atomização, apresentem potencial para preservar a viabilidade de microrganismos probióticos sob condições adversas, o sucesso desses sistemas depende fortemente da escolha adequada do material de revestimento, que influencia não apenas a eficiência e a cinética de liberação, mas também a estabilidade final do produto (Rajam & Subramanian, 2022).

Um material de revestimento ideal precisa ser de grau alimentício, biodegradável, capaz de formar uma barreira física entre o núcleo e o ambiente externo, resistente às condições adversas do trato gastrointestinal e, ao mesmo tempo, permitir liberação controlada

no cólon. Além disso, não deve reagir quimicamente com as células probióticas e deve ser sustentável e acessível (Xu et al., 2022; Pech-Canul et al., 2020).

Uma grande variedade de polímeros naturais e sintéticos de grau alimentício pode ser utilizada como material de revestimento. Entretanto, na proteção de probióticos, os componentes mais frequentemente empregados são carboidratos (como alginato, maltodextrina e pectina), proteínas (como proteínas do leite, proteínas de soja e gelatina) e lipídeos (como gorduras e ceras) (Abbas et al., 2023; Koh et al., 2022).

Estudos demonstram que a associação de dois ou mais materiais de revestimento pode resultar em melhorias substanciais na eficiência do encapsulamento e na proteção de probióticos. Essas combinações permitem explorar interações sinérgicas entre diferentes biopolímeros, aumentando a resistência às condições gastrointestinais e contribuindo para a liberação controlada de células (Agriopoulou et al., 2023; Misra et al., 2021).

Além dos materiais de revestimento já consagrados, a incorporação de prebióticos, compostos bioativos e subprodutos agroindustriais tem sido investigada como estratégia promissora para aumentar a estabilidade e a bioatividade dos microrganismos probióticos, bem como conferir propriedades funcionais adicionais aos sistemas encapsulados, incluindo efeitos simbióticos (Misra et al., 2021; Reque & Brandelli, 2021).

2.6.4.1. Maltodextrina

A maltodextrina é formalmente definida como uma mistura purificada de polímeros de sacarídeos, obtidos pela hidrólise parcial do amido comestível, composta por unidades de D-glicose unidas por ligações α -(1,4) e α -(1,6) (Xiao et al., 2022; Pech-Canul et al., 2020).

O grau de degradação do amido é expresso pelo valor equivalente de dextrose (DE), que normalmente varia entre 3 e 20. Esse parâmetro exerce influência direta sobre as propriedades físico-químicas da maltodextrina, como a viscosidade, a higroscopicidade, a solubilidade e a capacidade de formação de filme. De modo geral, quanto maior o DE, menor o tamanho médio das cadeias de glicose, o que resulta em maior solubilidade e menor resistência mecânica dos filmes. Em contrapartida, maltodextrinas com menor DE apresentam cadeias mais longas, o que favorece a formação de matrizes mais rígidas e estruturalmente estáveis (Pacheco et al., 2021).

A maltodextrina é amplamente empregada como material de revestimento no encapsulamento de probióticos devido ao seu baixo custo, atoxicidade, sabor e aroma neutros,

elevada estabilidade térmica, alta solubilidade em água e baixa viscosidade mesmo em altas concentrações de sólidos (Ceron-Cordoba et al., 2025; Kamble et al., 2024; Costa et al., 2023; Koh et al., 2022).

No entanto, a maltodextrina apresenta capacidade emulsificante limitada quando utilizada isoladamente. Dessa forma, sua aplicação mais eficaz ocorre em sistemas combinados com outros biomateriais, como goma arábica, amido, proteína do soro do leite, caseína e inulina, que contribuem para a formação de emulsões mais estáveis, maior integridade estrutural das partículas e melhor proteção celular (Xiao et al., 2022).

Diversos estudos têm explorado o uso de maltodextrina em sistemas combinados para aprimorar o desempenho do encapsulamento de probióticos. Por exemplo, Ramirez-Olea et al. (2024) relataram que a combinação de maltodextrina-alginato-inulina foi eficaz na microencapsulação de *Bacillus clausii*, com eficiência de encapsulamento de 80,53 % e preservação da viabilidade do probiótico ao longo das etapas de produção e dos processos digestivos *in vitro*.

2.6.4.2. Pectina

A pectina é um heteropolissacarídeo de origem vegetal, de complexa estrutura, constituído predominantemente por cadeias de ácido galacturônico interconectadas por ligações glicosídicas α -(1,4). Industrialmente, é obtida principalmente a partir de subprodutos agroindustriais, como cascas de frutas cítricas, sua fonte mais importante, além do bagaço de maçã e da polpa de beterraba, o que reforça seu caráter sustentável e economicamente acessível (Huang et al., 2021).

A estrutura da pectina é constituída por numerosos grupos carboxílicos que podem ser esterificados, em graus variáveis, com componentes não açucarados, como grupos metil e acetil. Dependendo do grau de esterificação (GE), as pectinas são classificadas em alto teor de metoxila (GE > 50 %) e baixo teor de metoxila (GE < 50 %) (Kumar et al., 2020).

O GE é determinante para o comportamento de gelificação do polímero, bem como para suas propriedades conformacionais e reológicas. As pectinas de alto teor de metoxila formam géis em meios com elevada concentração de sólidos solúveis ($\approx$ 65 %) e pH ácido (< 3,5), sendo utilizadas na produção de geleias e de produtos de confeitaria. Em contraste, as pectinas de baixo teor de metoxila gelificam na presença de íons de cálcio ou de outros cátions multivalentes, em uma faixa mais ampla de pH (2,0 – 6,0), com ou sem açúcar,

característica interessante para aplicações biotecnológicas (Brugnoni & Genovese, 2023; Freitas et al., 2021).

No encapsulamento de probióticos, a pectina tem sido explorada como alternativa a biomateriais de maior custo, em razão de sua abundância, preço acessível, caráter aniônico, atoxicidade, biocompatibilidade e biodegradabilidade. Adicionalmente, apresenta propriedades bioadesivas que podem favorecer a interação com a mucosa intestinal (Tang et al., 2026; Rao et al., 2025; Reichembach & Petkowicz, 2021).

Do ponto de vista funcional, a pectina demonstra resistência à digestão por enzimas do trato gastrointestinal superior, mas é fermentada pela microbiota colônica, característica que favorece a liberação direcionada de microrganismos encapsulados no cólon do hospedeiro. Esse comportamento, associado ao seu potencial prebiótico, pode estimular o crescimento de bactérias benéficas, aumentar a tolerância à acidez e melhorar a sobrevivência de probióticos encapsulados, reforçando seu papel como material de revestimento com dupla funcionalidade tecnológica e biológica (Ishwarya & Nisha, 2022; Koh et al., 2022).

Estudos recentes demonstram o potencial da pectina como material de revestimento no encapsulamento de probióticos. Chen et al. (2024), por exemplo, relataram que a pectina possui potencial como material de revestimento no encapsulamento de *Lactiplantibacillus plantarum* e *Lactobacillus rhamnosus*. Os autores alcançaram uma eficiência de encapsulamento em torno de 65 % e observaram que, sob condições de estresse ambiental e em processos digestivos, a taxa de sobrevivência dos probióticos encapsulados foi superior à dos probióticos livres.

2.6.4.3. Componentes alternativos “naturais”

O uso de ingredientes naturais e renováveis, especialmente os derivados de resíduos e subprodutos agroindustriais, tem mostrado uma estratégia promissora para o encapsulamento de probióticos. Essa abordagem está alinhada às tendências de “rótulo limpo” e “rótulo verde”, que priorizam formulações mais naturais, sustentáveis e ambientalmente responsáveis, além de contribuir para a valorização de biomassa residual e para a minimização de impactos ambientais (Samborska et al., 2021).

A incorporação desses biomateriais pode melhorar o desempenho dos sistemas de encapsulamento. Esses compostos podem aumentar a resistência das cápsulas a condições adversas, como acidez e temperatura elevadas, além de favorecer a liberação controlada e

direcionada de células viáveis no trato gastrointestinal. Em alguns casos, esses materiais também atuam como substratos fermentáveis ou fontes de nutrientes para os probióticos, contribuindo para a manutenção da viabilidade celular durante o armazenamento e após o consumo (How & Pui, 2021).

Diversos ingredientes de origem vegetal têm sido investigados como matrizes encapsulantes alternativas para probióticos. Yeung et al. (2024) demonstraram que os oligossacarídeos pécnicos de quiabo podem ser utilizados para encapsular probióticos com boa estabilidade estrutural e manutenção da viabilidade celular durante o armazenamento. De forma semelhante, Costa et al. (2023) investigaram o uso de farinha de batata-doce como material encapsulante e observaram que sua composição, rica em amido e fibras, favorece a formação de partículas estáveis e contribui para a proteção dos microrganismos frente a condições adversas.

Ingredientes derivados de frutas também têm sido explorados como fontes promissoras de biomateriais. Kamble et al. (2024) desenvolveram uma matriz composta por farinha de banana verde, maltodextrina e goma arábica e observaram que essa combinação foi capaz de formar micropartículas estáveis e de aumentar a resistência das células probióticas às condições simuladas do trato gastrointestinal. Similarmente, Garrido-Cruz et al. (2023) relataram que a farinha de casca de romã pode atuar como matriz encapsulante eficiente, promovendo proteção adicional às células probióticas e agregando compostos fenólicos com potencial antioxidante.

Ingredientes derivados de leguminosas também têm demonstrado potencial para aplicações no encapsulamento de probióticos. Sonmezler et al. (2025) sugerem que proteínas, amido e farinhas de lentilha podem ser utilizados para encapsular compostos bioativos, como probióticos, que contribui para a melhoria de suas propriedades funcionais. Da mesma forma, Islam et al. (2023) avaliaram o uso de proteínas vegetais provenientes de leguminosas e cereais como materiais de revestimento e observaram que essas matrizes foram capazes de formar microestruturas protetoras eficientes, aumentando a viabilidade celular durante o armazenamento e em condições simuladas do trato gastrointestinal.

A pesquisa nessa área tem se concentrado no desenvolvimento de sistemas de entrega baseados em biomateriais renováveis capazes de proteger microrganismos probióticos sem comprometer sua biodisponibilidade ou atividade funcional. Além disso, esses sistemas devem preservar os atributos sensoriais dos alimentos, como sabor, aparência e textura,

garantindo sua viabilidade tecnológica e aceitação pelo consumidor (Arratia-Quijada et al., 2024).

2.7. Abordagens experimentais para avaliação do potencial prebiótico e da funcionalidade de probióticos

A avaliação da funcionalidade de ingredientes alimentares com potencial prebiótico e de microrganismos probióticos requer a aplicação de abordagens experimentais integradas que permitam investigar, de forma abrangente, o comportamento desses ingredientes e microrganismos durante a digestão gastrointestinal (Zhou et al., 2023).

O sistema digestivo consiste no trato digestivo e nos órgãos acessórios, controlados pela rede neural e pelos hormônios. O trato digestivo pode ser descrito como um tubo aberto, com cerca de 8 a 9 metros de comprimento, que se estende da boca ao ânus e é composto pela faringe, pelo esôfago, pelo estômago e pelos intestinos delgados. Os órgãos acessórios incluem dentes, língua, glândulas salivares, fígado, vesícula biliar e pâncreas. Cada parte do trato digestivo tem uma função específica e, em conjunto, elas realizam a extração dos produtos da digestão e a eliminação dos resíduos (Sensoy, 2021).

Diferentes metodologias têm sido empregadas com o objetivo de compreender tanto a capacidade de matrizes alimentares de estimular, de forma seletiva, o crescimento de microrganismos benéficos quanto a estabilidade e a viabilidade de probióticos diante de condições adversas de processamento, armazenamento e digestão. Destacam-se, nesse cenário, os estudos *in vivo*, que reproduzem condições fisiológicas reais, e os modelos *in vitro*, que simulam essas condições de forma controlada e reprodutível (Xin et al., 2023; Zhou et al., 2023).

A digestão gastrointestinal *in vivo*, que normalmente envolve humanos ou animais, constitui um processo altamente complexo, dinâmico e integrado, no qual interações físico-químicas, enzimáticas e microbiológicas ocorrem simultaneamente ao longo do trato digestório. Apesar de sua relevância fisiológica, estudos *in vivo* apresentam limitações associadas a custos elevados, restrições éticas, baixa repetibilidade devido à variabilidade biológica dos indivíduos (Sensoy, 2021; Li et al., 2020).

Em razão dessas limitações, modelos de digestão gastrointestinal *in vitro* têm sido desenvolvidos como alternativas experimentais que permitem simular as etapas fundamentais da digestão, incluindo as fases oral, gástrica e intestinal, por meio do ajuste de parâmetros

como pH, composição enzimática, presença de sais biliares e tempo de residência, possibilitando tanto a estabilidade de compostos bioativos quanto a sobrevivência de microrganismos probióticos ao longo da digestão (Ji et al., 2022; Brodkorb et al., 2019; Minekus et al., 2014).

A determinação do potencial prebiótico de matrizes é frequentemente realizada por meio de ensaios de crescimento seletivo, nos quais se avalia a capacidade do substrato de estimular microrganismos benéficos em comparação com bactérias indesejáveis. Nesses estudos, parâmetros como viabilidade celular, taxa de crescimento e variações de pH são utilizados para o cálculo de índices de atividade prebiótica, permitindo a análise quantitativa da seletividade do substrato. Adicionalmente, a fermentação colônica *in vitro* possibilita avaliar a atividade metabólica microbiana, incluindo a produção de ácidos orgânicos, como AGCC, cuja quantificação é comumente realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), reforçando a funcionalidade das matrizes avaliadas (Jin et al., 2026; Bhagwat et al., 2025; Subhash et al., 2024; De Oliveira et al., 2023; De Andrade et al., 2022).

No caso dos probióticos, a viabilidade celular constitui um dos principais parâmetros para a avaliação da sua funcionalidade, sendo geralmente determinada por métodos de contagem de UFC. Essa abordagem permite quantificar a sobrevivência dos microrganismos em diferentes condições experimentais, incluindo o processamento tecnológico, o armazenamento e a digestão gastrointestinal *in vitro*. Além disso, a aplicação de técnicas de encapsulamento tem sido amplamente investigada como estratégia para melhorar a estabilidade e a proteção dos probióticos, sendo sua eficácia avaliada por meio de parâmetros como a taxa de encapsulamento, a integridade estrutural das partículas e a manutenção da viabilidade celular ao longo do tempo (Costa et al., 2025; Kamble et al., 2024; Tyagi et al., 2023; Rodrigues et al., 2022).

Técnicas de caracterização física, química e estrutural também são empregadas para compreender as interações entre os materiais de revestimento e os microrganismos encapsulados, bem como as propriedades das matrizes desenvolvidas. A espectroscopia no infravermelho médio (MIR) permite identificar grupos funcionais e possíveis interações intermoleculares entre os componentes do sistema, enquanto a análise térmica por calorimetria exploratória diferencial (DSC) fornece informações sobre a estabilidade térmica e as transições físico-químicas das matrizes encapsulantes (Montoya-Soto et al., 2025; Yeung et al., 2024).

Já a microscopia eletrônica de varredura (MEV) permite avaliar a morfologia e a integridade estrutural das partículas formadas. A determinação de propriedades, como atividade de água (aw), teor de umidade, solubilidade, viscosidade e cor instrumental, contribui para a compreensão da estabilidade e da aplicabilidade dos sistemas em alimentos (Gazalian et al., 2025; Santos et al., 2025; Costa et al., 2023). A análise reológica das soluções encapsulantes também se destaca como uma ferramenta importante para avaliar o comportamento do fluxo e as interações estruturais antes do processo de secagem, influenciando diretamente a formação e as características das cápsulas obtidas (Montoya-Soto et al., 2025; Hughes et al., 2024).

Dessa forma, a aplicação integrada de modelos de digestão *in vitro*, ensaios de atividade prebiótica, fermentação colônica e técnicas de caracterização físico-química permite uma avaliação abrangente da digestibilidade e da funcionalidade de matrizes alimentares, bem como da eficiência dos sistemas de encapsulamento de probióticos em sítios específicos do intestino, contribuindo para o desenvolvimento de alimentos funcionais mais eficazes.

Referências

- Abbas, M. S., Afzaal, M., Saeed, F., Asghar, A., Jianfeng, L., Ahmad, A., Ullah, Q., Elahi, S., Ateeq, H., Shah, Y. A., Nouman, M., & Shah, M. A. (2023). Probiotic viability as affected by encapsulation materials: Recent updates and perspectives. *International Journal of Food Properties*, 26(1), 1324-1350. <https://doi.org/10.1080/10942912.2023.2213408>
- Abebe, B. K., & Alemayehu, M. T. (2022). A review of the nutritional use of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) for human and animal diets. *Journal of Agriculture and Food Research*, 10, 100383. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100383>
- Afzaal, M., Saeed, F., Shah, Y. A., Hussain, M., Rabail, R., Socol, C. T., Hassoun, A., Pateiro, M., Lorenzo, J. M., Russu, A. V., & Aadil, R. M. (2022). Human gut microbiota in health and disease: Unveiling the relationship. *Frontiers in Microbiology*, 13, 999001. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.999001>
- Agriopoulou, S., Tarapoulouzi, M., Varzakas, T., & Jafari, S. M. (2023). Application of encapsulation strategies for probiotics: from individual loading to co-

encapsulation. *Microorganisms*, 11(12), 2896.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms11122896>

- Ahmad, W., Nasir, A., Sattar, F., Ashfaq, I., Chen, M. H., Hayat, A., Ur Rehman, M., Zhao, S., Khaliq, S., Ghauri, M. A., & Anwar, M. A. (2022). Production of bimodal molecular weight levan by a *Lactobacillus reuteri* isolate from fish gut. *Folia Microbiologica*, 67(1), 21-31. <https://doi.org/10.1007/s12223-021-00913-w>
- Akutko, K., & Stawarski, A. (2021). Probiotics, prebiotics and synbiotics in inflammatory bowel diseases. *Journal of Clinical Medicine*, 10(11), 2466. <https://doi.org/10.3390/jcm10112466>
- Altamirano-Ríos, A. V., Guadarrama-Lezama, A. Y., Arroyo-Maya, I. J., Hernández-Álvarez, A. J., & Orozco-Villafuerte, J. (2022). Effect of encapsulation methods and materials on the survival and viability of *Lactobacillus acidophilus*: A review. *International Journal of Food Science & Technology*, 57(7), 4027-4040. <https://doi.org/10.1111/ijfs.15779>
- Alu'datt, M. H., Alrosan, M., Gammoh, S., Tranchant, C. C., Alhamad, M. N., Rababah, T., Zghoul, R., Alzoubi, H., Ghatasheh, S., Glozlan, K., & Tan, T. C. (2022). Encapsulation-based technologies for bioactive compounds and their application in the food industry: A roadmap for food-derived functional and health-promoting ingredients. *Food Bioscience*, 50, 101971. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101971>
- Apalowo, O., Adegoye, G., & Obuotor, T. (2024). Exploring the functional roles of sustainable dietary patterns on gut microbiota composition and optimal health. *Bioactive Compounds in Health and Disease-Online ISSN: 2574-0334; Print ISSN: 2769-2426*, 7(2), 110-130. <https://doi.org/10.31989/7i2.1279>
- Arratia-Quijada, J., Nuño, K., Ruíz-Santoyo, V., & Andrade-Espinoza, B. A. (2024). Nano-encapsulation of probiotics: Need and critical considerations to design new non-dairy probiotic products. *Journal of Functional Foods*, 116, 106192. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2024.106192>

- Ashaolu, T. J. (2020). Immune boosting functional foods and their mechanisms: A critical evaluation of probiotics and prebiotics. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 130, 110625. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110625>
- Aspri, M., Papademas, P., & Tsaltas, D. (2020). Review on non-dairy probiotics and their use in non-dairy based products. *Fermentation*, 6(1), 30. <https://doi.org/10.3390/fermentation6010030>
- Ávila, M., Gómez-Torres, N., Delgado, D., Gaya, P., & Garde, S. (2017). Industrial-scale application of *Lactobacillus reuteri* coupled with glycerol as a biopreservation system for inhibiting *Clostridium tyrobutyricum* in semi-hard ewe milk cheese. *Food microbiology*, 66, 104-109. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.04.010>
- Badgeley, A., Anwar, H., Modi, K., Murphy, P., & Lakshmikuttyamma, A. (2021). Effect of probiotics and gut microbiota on anti-cancer drugs: Mechanistic perspectives. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*, 1875(1), 188494. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2020.188494>
- Bah, M. G., Bilal, H. M., & Wang, J. (2020). Fabrication and application of complex microcapsules: A review. *Soft Matter*, 16(3), 570-590. <https://doi.org/10.1039/C9SM01634A>
- Baker, M. T., Lu, P., Parrella, J. A., & Leggette, H. R. (2022). Consumer acceptance toward functional foods: A scoping review. *International journal of environmental research and public health*, 19(3), 1217. <https://doi.org/10.3390/ijerph19031217>
- Bangar, S. P., Suri, S., Trif, M., & Ozogul, F. (2022). Organic acids production from lactic acid bacteria: A preservation approach. *Food Bioscience*, 46, 101615. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101615>
- Banwo, K., Olojede, A. O., Adesulu-Dahunsi, A. T., Verma, D. K., Thakur, M., Tripathy, S., Singh, S., Patel, A. R., Gupta, A. K., Aguilar, C. N., & Utama, G. L. (2021). Functional importance of bioactive compounds of foods with Potential Health Benefits: A review on recent trends. *Food Bioscience*, 43, 101320. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101320>

- Berenice, L. E. E., Rigoberto, B. F., Abraham, C. M., Yoliztli, M. P. N., & Minerva, R. O. (2026). Encapsulation and Functional Activity of *Lactobacillus reuteri* Strains: Advances, Challenges, and Perspectives. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 25(2), e70412. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.70412>
- Bhagwat, P., Soni, H., Singh, G., Tandon, S., Kumar, V., Lale, S. K., ... & Acharya, R. (2025). Prebiotic potential of selected plants, fruits, vegetables and herbs—An in-vitro study. *Food and Humanity*, 5, 100678. <https://doi.org/10.1016/j.foohum.2025.100678>
- Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999. Regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e/ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. Brasília, DF, 1999.
- Brodkorb, A., Egger, L., Alming, M., Alvito, P., Assunção, R., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu-Lacanal, C., Boutrou, R., Carrière, F., Clemente, A., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Edwards, C., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A. R., Martins, C., Manze, S., McClements, D. J., Ménard, O., Minekus, M., Portmann, R., Santos, C. N., Souchon, I., Singh, R. P., Vegarud, G. E., Wickham, M. S. J., Weitschies, W., & Recio, I. (2019). INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature protocols*, 14(4), 991-1014. <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0119-1>
- Brugnoni, L. I., & Genovese, D. B. (2023). Impact of probiotic cell inclusion and metabolic activity on the rheological properties of low-methoxyl pectin solutions and gels. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 29, 100352. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2023.100352>
- Calvete-Torre, I., Sabater, C., Antón, M. J., Moreno, F. J., Riestra, S., Margolles, A., & Ruiz, L. (2022). Prebiotic potential of apple pomace and pectins from different apple varieties: Modulatory effects on key target commensal microbial populations. *Food Hydrocolloids*, 133, 107958. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107958>
- Cedran, M. F., Rodrigues, F. J., Sato, H. H., & Bicas, J. L. (2025). Powdered jaboticaba peel and pequi oil: Effect on the encapsulation of *L. reuteri* by double emulsion-extrusion

technique and evaluation of in vitro prebiotic effects. *The Microbe*, 100558. <https://doi.org/10.1016/j.microb.2025.100558>

- Ceron-Cordoba, J. F., Muñoz-Domínguez, L. C., Valencia, J. S., & Restrepo-Molina, D. A. (2025). Determination of spray-drying parameters for *Limosilactobacillus reuteri* and *Lactiplantibacillus plantarum* to include them in ice cream formulated with sweet whey. *Journal of dairy science*, 108(4), 3151-3161. <https://doi.org/10.3168/jds.2024-25908>
- Chen, P., Tian, J., Ren, Y., Cheng, H., Pan, H., Chen, S., Ye, X., & Chen, J. (2024). Enhance the resistance of probiotics by microencapsulation and biofilm construction based on rhamnogalacturonan I rich pectin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 258, 128777. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.128777>
- Cid-Córdoba, A. Y., Calderón-Domínguez, G., Perea-Flores, M. D. J., Peña-Barrientos, A., Serrano-Villa, F. S., Barrios-Francisco, R., González-Vázquez, M., & Rentería-Ortega, M. (2025). Encapsulation of *Lactobacillus reuteri* in Chia–Alginate Hydrogels for Whey-Based Functional Powders. *Gels*, 11(8), 613. <https://doi.org/10.3390/gels11080613>
- Cong, J., Zhou, P., & Zhang, R. (2022). Intestinal microbiota-derived short chain fatty acids in host health and disease. *Nutrients*, 14(9), 1977. <https://doi.org/10.3390/nu14091977>
- Consortium, H. T., Lavalle, L., Sauvageot, N., Cercamondi, C. I., Jankovic, I., Egli, D., & Vandenplas, Y. (2023). *Limosilactobacillus reuteri* DSM 17938-containing infant formulas and the associations with gastrointestinal tolerance: a cross-sectional observational study. *Nutrients*, 15(3), 530. <https://doi.org/10.3390/nu15030530>
- Costa, N. A., Amaral, E. P., Pereira, G. C., Silveira, L. R., do Amaral e Paiva, M. J., Leite Júnior, B. R. C., Stringheta, P. C., Paula, D. A., Martins, E. M. F., Martins, M. L., Vieira, É. N. R., Saldaña, M. D. A., & Ramos, A. M. (2025). Yacon flour (*Smallanthus sonchifolius*) as wall material for microencapsulation of *Lactobacillus rhamnosus* GG: Characterization of microparticles and its use in pitaya jelly. *Food and Bioprocess Technology*, 18(2), 1446-1463. <https://doi.org/10.1007/s11947-024-03526-6>

- Costa, N. A., Silveira, L. R., Amaral, E. P., Pereira, G. C., Paula, D. A., Vieira, É. N. R., Martins, E. M. F., Stringheta, P. C., Leite Júnior, B. R. C., & Ramos, A. M. (2023). Use of maltodextrin, sweet potato flour, pectin and gelatin as wall material for microencapsulating *Lactiplantibacillus plantarum* by spray drying: thermal resistance, *in vitro* release behavior, storage stability and physicochemical properties. *Food Research International*, 164, 112367. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112367>
- Cunningham, M., Azcarate-Peril, M. A., Barnard, A., Benoit, V., Grimaldi, R., Guyonnet, D., Holscher, H. D., Hunter, K., Manurung, S., Obis, D., Petrova, M. I., Sterinert, R. E., Swanson, K. S., Sinderen, D. V., Vulevic, J., & Gibson, G. R. (2021). Shaping the future of probiotics and prebiotics. *Trends in microbiology*, 29(8), 667-685. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2021.01.003>
- Da Silva, A. C., Santos, D. D. C., Junior, D. L. T., Da Silva, P. B., Dos Santos, R. C., & Siviero, A. (2018). Cowpea: A strategic legume species for food security and health. In *Legume Seed Nutraceutical Research*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.79006>
- De Albuquerque, T. M. R., Borges, C. W. P., Cavalcanti, M. T., Lima, M D. S., Magnani, M., & De Souza, E. L. (2020). Potential prebiotic properties of flours from different varieties of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) roots cultivated in Northeastern Brazil. *Food Bioscience*, 36, 100614. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100614>
- De Andrade, R. M. S., Silva, S., Costa, C. M. D. S. F., Veiga, M., Costa, E., Ferreira, M. S. L., ... & Pintado, M. E. (2020). Potential prebiotic effect of fruit and vegetable byproducts flour using *in vitro* gastrointestinal digestion. *Food Research International*, 137, 109354. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109354>
- De Oliveira, S. P. A., de Albuquerque, T. M. R., Massa, N. M. L., Rodrigues, N. P. A., Sampaio, K. B., do Nascimento, H. M. A., ... & de Souza, E. L. (2023). Investigating the effects of conventional and unconventional edible parts of red beet (*Beta vulgaris* L.) on target bacterial groups and metabolic activity of human colonic microbiota to produce novel and sustainable prebiotic ingredients. *Food Research International*, 171, 112998. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112998>

- Dempsey, E., & Corr, S. C. (2022). Lactobacillus spp. for gastrointestinal health: current and future perspectives. *Frontiers in Immunology*, 13, 840245. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.840245>
- Depoorter, L., & Vandenplas, Y. (2021). Probiotics in pediatrics. A review and practical guide. *Nutrients*, 13(7), 2176. <https://doi.org/10.3390/nu13072176>
- Duraipandian, M., Poorani, K. E., Abirami, H., & Anusha, M. B. (2022). Vigna unguiculata (L.) Walp: a strategic crop for nutritional security, well being and environmental protection. *Legumes Research-Volume 2*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.103025>
- Essa, M. M., Bishir, M., Bhat, A., Chidambaram, S. B., Al-Balushi, B., Hamdan, H., Govindarajan, N., Freidland, R. P., & Qoronfleh, M. W. (2023). Functional foods and their impact on health. *Journal of food science and technology*, 60(3), 820-834. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05193-3>
- Estilarte, M. L., Tymczyszyn, E. E., de los Angeles Serradell, M., & Carasi, P. (2021). Freeze-drying of *Enterococcus durans*: Effect on their probiotics and biopreservative properties. *Lwt*, 137, 110496. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110496>
- Feng, K., Huang, R. M., Wu, R. Q., Wei, Y. S., Zong, M. H., Linhardt, R. J., & Wu, H. (2020). A novel route for double-layered encapsulation of probiotics with improved viability under adverse conditions. *Food chemistry*, 310, 125977. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125977>
- Ferreira, H., Vasconcelos, M., Gil, A. M., & Pinto, E. (2021). Benefits of pulse consumption on metabolism and health: A systematic review of randomized controlled trials. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(1), 85-96. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1716680>
- Fredua-Agyeman, M. (2024). Surviving process and transit: Controlled freeze drying, storage and enteric coated capsules for targeted delivery of probiotic *Lactobacillus acidophilus*. *Heliyon*, 10(7). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e28407>

- Freitas, C. M. P., Coimbra, J. S. R., Souza, V. G. L., & Sousa, R. C. S. (2021). Structure and applications of pectin in food, biomedical, and pharmaceutical industry: A review. *Coatings*, 11(8), 922. <https://doi.org/10.3390/coatings11080922>
- Furuta, T., & Neoh, T. L. (2021). Microencapsulation of food bioactive components by spray drying: A review. *Drying Technology*, 39(12), 1800-1831. <https://doi.org/10.1080/07373937.2020.1862181>
- Ganje, M., Sekhavatizadeh, S. S., Teymouri, F., Gilkheiri, M., & Rahmani, B. (2024). Encapsulation of *Lactocaseibacillus rhamnosus* by Extrusion Method to Access the Viability in Saffron Milk Dessert and Under Simulated Gastrointestinal Conditions. *Food Science & Nutrition*, 12(11), 9714-9726. <https://doi.org/10.1002/fsn3.4510>
- Garrido-Cruz, J. L., Totosa, A., Pérez-Alvarez, J. A., Cortés-Barberena, E., & Pérez-Chabela, M. L. (2023). Bioactivity of pomegranate (*Punica granatum* L.) peels flour to improve probiotics viability in micro co-encapsulation by ionic gelation. *Food Biotechnology*, 37(4), 393-412. <https://doi.org/10.1080/08905436.2023.2269256>
- Gazalian, D., Aliahmadi, A., & Rafati, H. (2025). Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* using cellulose-based polymers by spray-drying: A probiotic-delivery system for enhanced acid-resistance and storage stability. *International Journal of Biological Macromolecules*, 311, 143634. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.143634>
- Gharibzahedi, S. M. T., & Smith, B. (2021). Effects of high hydrostatic pressure on the quality and functionality of protein isolates, concentrates, and hydrolysates derived from pulse legumes: A review. *Trends in food science & technology*, 107, 466-479. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.11.016>
- Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J., Scott, K., Stanton, C., Swanson, K. S., Cani, P. D., Verbeke, K., & Reid, G. (2017). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 14(8), 491-502. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.75>

- Gilham, B., Hall, R., & Woods, J. L. (2018). Vegetables and legumes in new Australasian food launches: how are they being used and are they a healthy choice?. *Nutrition Journal*, 17, 1-9. <https://doi.org/10.1186/s12937-018-0414-2>
- Gómez-García, R., Sánchez-Gutiérrez, M., Freitas-Costa, C., Vilas-Boas, A. A., Campos, D. A., Aguilar, C. N., Madureira, A. R., & Pintado, M. (2022). Prebiotic effect, bioactive compounds and antioxidant capacity of melon peel (*Cucumis melo* L. *inodorus*) flour subjected to in vitro gastrointestinal digestion and human faecal fermentation. *Food Research International*, 154, 111045. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111045>
- Granato, D., Barba, F. J., Bursać Kovačević, D., Lorenzo, J. M., Cruz, A. G., & Putnik, P. (2020). Functional foods: Product development, technological trends, efficacy testing, and safety. *Annual review of food science and technology*, 11(1), 93-118. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-032519-051708>
- Grom, L. C., Coutinho, N. M., Guimarães, J. T., Balthazar, C. F., Silva, R., Rocha, R. S., Freitas, M. Q., Duarte, M. C. K. H., Pimentel, T. C., Esmarino, E. A., Silva, M. C., & Cruz, A. G. (2020). Probiotic dairy foods and postprandial glycemia: A mini-review. *Trends in Food Science & Technology*, 101, 165-171. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.05.012>
- Gu, Q., Yin, Y., Yan, X., Liu, X., Liu, F., & McClements, D. J. (2022). Encapsulation of multiple probiotics, synbiotics, or nutrabiobiotics for improved health effects: A review. *Advances in Colloid and Interface Science*, 309, 102781. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2022.102781>
- Holkem, A. T., Da Silva, M. P., & Favaro-Trindade, C. S. (2023). Probiotics and plant extracts: A promising synergy and delivery systems. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(28), 9561-9579. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2066623>
- How, Y. H., Lai, K. W., Pui, L. P., & In, L. L. A. (2022). Co-extrusion and extrusion microencapsulation: Effect on microencapsulation efficiency, survivability through gastrointestinal digestion and storage. *Journal of Food Process Engineering*, 45(3), e13985. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13985>

- How, Y., & Pui, L. (2021). Effect of prebiotics encapsulated with probiotics on encapsulation efficiency, microbead size, and survivability: a review. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(6), 4899-4916. <https://doi.org/10.1007/s11694-021-01059-6>
- Huang, J., Hu, Z., Hu, L., Li, G., Yao, Q., & Hu, Y. (2021). Pectin-based active packaging: A critical review on preparation, physical properties and novel application in food preservation. *Trends in Food Science & Technology*, 118, 167-178. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.09.026>
- Hughes, M. H., Brugnoli, L. I., & Genovese, D. B. (2024). Mixed κ/ι -carrageenan-LM pectin gels: Relating the rheological and mechanical properties with the capacity for probiotic encapsulation. *International journal of biological macromolecules*, 273, 133009. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.133009>
- Hutkins, R., Walter, J., Gibson, G. R., Bedu-Ferrari, C., Scott, K., Tancredi, D. J., Wijeyesekera, A., & Sanders, M. E. (2025). Classifying compounds as prebiotics - scientific perspectives and recommendations. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 22(1), 54-70. <https://doi.org/10.1038/s41575-024-00981-6>
- Ishwarya S, P., R, S., & Nisha, P. (2022). Advances and prospects in the food applications of pectin hydrogels. *Critical reviews in food science and nutrition*, 62(16), 4393-4417. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1875394>
- Islam, F., Amer Ali, Y., Imran, A., Afzaal, M., Zahra, S. M., Fatima, M., Saees, F., Usman, I., Shehzadi, U., Mehta, S., & Shah, M. A. (2023). Vegetable proteins as encapsulating agents: Recent updates and future perspectives. *Food Science & Nutrition*, 11(4), 1705-1717. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3234>
- Ji, H., Hu, J., Zuo, S., Zhang, S., Li, M., & Nie, S. (2022). In vitro gastrointestinal digestion and fermentation models and their applications in food carbohydrates. *Critical reviews in food science and nutrition*, 62(19), 5349-5371. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1884841>

- Kadyan, S., Sharma, A., Arjmandi, B. H., Singh, P., & Nagpal, R. (2022). Prebiotic potential of dietary beans and pulses and their resistant starch for aging-associated gut and metabolic health. *Nutrients*, 14(9), 1726. <https://doi.org/10.3390/nu14091726>
- Kamble, M., Singh, A., Singh, S. V., Upadhyay, A., Kondepudi, K. K., & Chinchkar, A. V. (2024). Effect of gastrointestinal resistant encapsulate matrix on spray dried microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG powder and its characterization. *Food Research International*, 192, 114804. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114804>
- Karelakis, C., Zevgitis, P., Galanopoulos, K., & Mattas, K. (2020). Consumer trends and attitudes to functional foods. *Journal of International Food & Agribusiness Marketing*, 32(3), 266-294. <https://doi.org/10.1080/08974438.2019.1599760>
- Kawasaki, H., Shimanouchi, T., & Kimura, Y. (2019). Recent development of optimization of lyophilization process. *Journal of chemistry*, 2019(1), 9502856. <https://doi.org/10.1155/2019/9502856>
- Kebede, E., & Bekeko, Z. (2020). Expounding the production and importance of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) in Ethiopia. *Cogent Food & Agriculture*, 6(1), 1769805. <https://doi.org/10.1080/23311932.2020.1769805>
- Kerry, R. G., Patra, J. K., Gouda, S., Park, Y., Shin, H. S., & Das, G. (2018). Benefaction of probiotics for human health: A review. *Journal of Food and Drug Analysis*, 26(3), 927-939. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.01.002>
- Khan, M. S., Ikram, M., Park, J. S., Park, T. J., & Kim, M. O. (2020). Gut microbiota, its role in induction of Alzheimer's disease pathology, and possible therapeutic interventions: special focus on anthocyanins. *Cells*, 9(4), 853. <https://doi.org/10.3390/cells9040853>
- Khangwal, I., & Shukla, P. (2019). Potential prebiotics and their transmission mechanisms: Recent approaches. *Journal of Food and Drug Analysis*, 27(3), 649-656. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2019.02.003>
- Kieps, J., & Dembczyński, R. (2022). Current trends in the production of probiotic formulations. *Foods*, 11(15), 2330. <https://doi.org/10.3390/foods11152330>

- Koh, W. Y., Lim, X. X., Tan, T. C., Kobun, R., & Rasti, B. (2022). Encapsulated probiotics: Potential techniques and coating materials for non-dairy food applications. *Applied Sciences*, 12(19), 10005. <https://doi.org/10.3390/app121910005>
- Kowalska, A., Leoniak, K., & Sołowiej, B. G. (2024). Consumers' attitudes and intentions toward functional beverages: a lesson for producers and retailers. *Decision*, 51(3), 321-337. <https://doi.org/10.1007/s40622-024-00395-y>
- Kullar, R., Goldstein, E. J., Johnson, S., & McFarland, L. V. (2023). *Lactobacillus* bacteremia and probiotics: a review. *Microorganisms*, 11(4), 896. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11040896>
- Kumar, M., Tomar, M., Saurabh, V., Mahajan, T., Punia, S., del Mar Contreras, M., Rudra, S. G.; Kaur, C.; & Kennedy, J. F. (2020). Emerging trends in pectin extraction and its anti-microbial functionalization using natural bioactives for application in food packaging. *Trends in Food Science & Technology*, 105, 223-237. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.09.009>
- Latif, A., Shehzad, A., Niazi, S., Zahid, A., Ashraf, W., Iqbal, M. W., Rehman, A., Riaz, T., Aadil, R. M., Khan, I. M., Özogul, F., Rocha, J. M., Esatbeyoglu, T., & Korma, S. A. (2023). Probiotics: mechanism of action, health benefits and their application in food industries. *Frontiers in*
- Li, C., Peng, K., Xiao, S., Long, Y., & Yu, Q. (2023). The role of *Lactobacillus* in inflammatory bowel disease: from actualities to prospects. *Cell Death Discovery*, 9(1), 361. <https://doi.org/10.1038/s41420-023-01666-w>
- Li, C., Yu, W., Wu, P., & Chen, X. D. (2020). Current in vitro digestion systems for understanding food digestion in human upper gastrointestinal tract. *Trends in Food Science & Technology*, 96, 114-126. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.12.015>
- Li, X., Li, Y., Zhu, K., Zou, K., Lei, Y., Liu, C., Wei, H., & Zhang, Z. (2024). Reuterin formed by poultry-derived *Limosilactobacillus reuteri* HLRE05 inhibits the growth of enterotoxigenic *Bacillus cereus* in in vitro and fermented milk. *Food Bioscience*, 59, 104078. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.104078>

- Liu, X., Mao, B., Tang, X., Zhang, Q., Zhao, J., Chen, W., & Cui, S. (2025). Bacterial viability retention in probiotic foods: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-23. <https://doi.org/10.1080/10408398.2025.2488228>
- Ma, Z. F., Liu, S., Fu, C., Zhou, S., & Lee, Y. Y. (2026). Functional foods in health promotion and disease prevention: innovations, evidence and challenges. *Foods*, 15(4), 764. <https://doi.org/10.3390/foods15040764>
- Maftai, N. M., Raileanu, C. R., Balta, A. A., Ambrose, L., Boev, M., Marin, D. B., & Lisa, E. L. (2024). The potential impact of probiotics on human health: An update on their health-promoting properties. *Microorganisms*, 12(2), 234. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12020234>
- Mahmoud, M., Abdallah, N. A., El-Shafei, K., Tawfik, N. F., & El-Sayed, H. S. (2020). Survivability of alginate-microencapsulated *Lactobacillus plantarum* during storage, simulated food processing and gastrointestinal conditions. *Heliyon*, 6(3). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03541>
- Mahmud, S., Khan, S., Khan, M. R., Islam, J., Sarker, U. K., Hasan, G. A., & Ahmed, M. (2022). Viability and stability of microencapsulated probiotic bacteria by freeze-drying under in vitro gastrointestinal conditions. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(11), e17123. <https://doi.org/10.1111/jfpp.17123>
- Maia, F. R. (2023). Cowpe bean production-(*Vigna Unguiculata* (L.) walp). A drought-resistant plant is very common in regions of the brazilian semi-arid. *Journal of Interdisciplinary Debates*, 4(04), 242-263. <https://doi.org/10.51249/jid.v4i04.1731>
- Martirosyan, D. M., & Singh, J. (2015). A new definition of functional food by FFC: what makes a new definition unique?. *Functional Foods in Health and Disease*, 5(6), 209-223. <https://doi.org/10.31989/ffhd.v5i6.183>
- Martirosyan, D., & Miller, E. (2018). Bioactive compounds: The key to functional foods. *Bioactive Compounds in Health and Disease-Online ISSN: 2574-0334; Print ISSN: 2769-2426*, 1(3), 36-39. <https://doi.org/10.31989/bchd.v1i3.539>

- Mathesius, U. (2022). Are legumes different? Origins and consequences of evolving nitrogen fixing symbioses. *Journal of Plant Physiology*, 276, 153765. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2022.153765>
- Meena, K. K., Taneja, N. K., Ojha, A., & Meena, S. (2023). Application of spray-drying and freeze-drying for microencapsulation of lactic acid bacteria: A review. *Annals of Phytomedicine*, 12(1), 706-716. <http://dx.doi.org/10.54085/ap.2023.12.1.76>
- Minekus, M., Alminger, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carrière, F., Boutrou, R., Correding, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A., Marze, S., McClements, D. J., Ménard, O., Recio, I., Santos, C. N., Singh, R. P., Vegarud, G. E., Wickham, M. S. J., Weitschies, W., & Brodkorb, A. (2014). A standardised static in vitro digestion method suitable for food—an international consensus. *Food & function*, 5(6), 1113-1124.
- Misra, S., Pandey, P., & Mishra, H. N. (2021). Novel approaches for co-encapsulation of probiotic bacteria with bioactive compounds, their health benefits and functional food product development: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 109, 340-351. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.039>
- Montoya-Soto, J. G., González-Laredo, R. F., Medina-Torres, L., Gallegos-Infante, J. A., Ochoa-Martínez, L. A., & Manero, O. (2025). Probiotic microencapsulation by spray drying using Aloe vera (*Aloe Barbadensis* Miller) mucilage, whey protein isolates and gum arabic as encapsulation agents. *CyTA-Journal of Food*, 23(1), 2587498. <https://doi.org/10.1080/19476337.2025.2587498>
- Moumita, S., & Das, B. (2022). Assessment of the prebiotic potential and bioactive components of common edible mushrooms in India and formulation of synbiotic microcapsules. *LWT*, 156, 113050. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.113050>
- Mu, Q., Tavella, V. J., & Luo, X. M. (2018). Role of *Lactobacillus reuteri* in human health and diseases. *Frontiers in Microbiology*, 9, 757. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00757>

- Ogbole, O. O., Akin-Ajani, O. D., Ajala, T. O., Ogunniyi, Q. A., Fettke, J., & Odeku, O. A. (2023). Nutritional and pharmacological potentials of orphan legumes: Subfamily faboideae. *Heliyon*, 9(4). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e15493>
- Oyeyinka, S. A., Kayitesi, E., Adebo, O. A., Oyedeji, A. B., Ogundele, O. M., Obilana, A. O., & Njobeh, P. B. (2021). A review on the physicochemical properties and potential food applications of cowpea (*Vigna unguiculata*) starch. *International Journal of Food Science and Technology*, 56(1), 52-60. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14604>
- Pacheco, M. S., Barbieri, D., da Silva, C. F., & de Moraes, M. A. (2021). A review on orally disintegrating films (ODFs) made from natural polymers such as pullulan, maltodextrin, starch, and others. *International journal of biological macromolecules*, 178, 504-513. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.02.180>
- Pech-Canul, A. D. L. C., Ortega, D., García-Triana, A., González-Silva, N., & Solis-Oviedo, R. L. (2020). A brief review of edible coating materials for the microencapsulation of probiotics. *Coatings*, 10(3), 197. <https://doi.org/10.3390/coatings10030197>
- Peng, Y., Ma, Y., Luo, Z., Jiang, Y., Xu, Z., & Yu, R. (2023). *Lactobacillus reuteri* in digestive system diseases: focus on clinical trials and mechanisms. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 13, 1254198. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1254198>
- Peredo-Lovillo, A., Romero-Luna, H. E., & Jiménez-Fernández, M. (2020). Health promoting microbial metabolites produced by gut microbiota after prebiotics metabolism. *Food Research International*, 136, 109473. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109473>
- Pudžiuvėlytė, L., Petrauskaitė, E., Stabrauskienė, J., & Bernatoniienė, J. (2025). Spray-drying microencapsulation of natural bioactives: Advances in Sustainable Wall materials. *Pharmaceuticals*, 18(7), 963. <https://doi.org/10.3390/ph18070963>
- Rajam, R., & Subramanian, P. (2022). Encapsulation of probiotics: past, present and future. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 11(1), 46. <https://doi.org/10.1186/s43088-022-00228-w>
- Ramirez-Olea, H., Herrera-Cruz, S., & Chavez-Santoscoy, R. A. (2024). Microencapsulation and controlled release of *Bacillus clausii* through a novel non-digestible carbohydrate

formulation as revolutionizing probiotic delivery. *Heliyon*, 10(2).
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e24923>

- Ramos, S., & Martín, M. Á. (2021). Impact of diet on gut microbiota. *Current Opinion in Food Science*, 37, 83-90. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.09.006>
- Rao, Y., Deng, J., Zhang, C., Song, Y., & Liu, L. (2025). Probiotics encapsulated by calcium pectin/chitosan-calcium pectin/sodium alginate-pectin-whey through biofilm-based microencapsulation strategy and their preventive effects on ulcerative colitis. *Food hydrocolloids*, 158, 110501. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.110501>
- Rashidinejad, A., Bahrami, A., Rehman, A., Rezaei, A., Babazadeh, A., Singh, H., & Jafari, S. M. (2022). Co-encapsulation of probiotics with prebiotics and their application in functional/synbiotic dairy products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(9), 2470-2494. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1854169>
- Reichembach, L. H., & Petkowicz, C. L. D. O. (2021). Pectins from alternative sources and uses beyond sweets and jellies: An overview. *Food Hydrocolloids*, 118, 106824. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106824>
- Rengadu, D., Gerrano, A. S., & Mellem, J. J. (2020). Prebiotic effect of resistant starch from *Vigna unguiculata* (L.) Walp. (cowpea) using an in vitro simulated digestion model. *International Journal of Food Science and Technology*, 55(1), 332-339. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14304>
- Reque, P. M., & Brandelli, A. (2021). Encapsulation of probiotics and nutraceuticals: Applications in functional food industry. *Trends in Food Science & Technology*, 114, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.05.022>
- Rodrigues, F. J., Cedran, M. F., Bicas, J. L., & Sato, H. H. (2020). Encapsulated probiotic cells: Relevant techniques, natural sources as encapsulating materials and food applications – A narrative review. *Food research international*, 137, 109682. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109682>
- Rodrigues, F. J., Cedran, M. F., Pereira, G. A., Bicas, J. L., & Sato, H. H. (2022). Effective encapsulation of reuterin-producing *Limosilactobacillus reuteri* in alginate beads

prepared with different mucilages/gums. *Biotechnology reports*, 34, e00737. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2022.e00737>

- Rojas-Muñoz, Y. V., Santagapita, P. R., & Quintanilla-Carvajal, M. X. (2023). Probiotic Encapsulation: Bead Design Improves Bacterial Performance during In Vitro Digestion. *Polymers*, 15(21), 4296. <https://doi.org/10.3390/polym15214296>
- Romero-Chapol, O. O., Varela-Pérez, A., Castillo-Olmos, A. G., García, H. S., Singh, J., García-Ramírez, P. J., Viveros-Contreras, R., Figueroa-Hernández, C. Y., & Cano-Sarmiento, C. (2022). Encapsulation of *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG: probiotic survival, in vitro digestion and viability in apple juice and yogurt. *Applied Sciences*, 12(4), 2141. <https://doi.org/10.3390/app12042141>
- Roy, S., & Dhaneshwar, S. (2023). Role of prebiotics, probiotics, and synbiotics in management of inflammatory bowel disease: Current perspectives. *World Journal of Gastroenterology*, 29(14), 2078. <https://doi.org/10.3748/wjg.v29.i14.2078>
- Samborska, K., Boostani, S., Geranpour, M., Hosseini, H., Dima, C., Khoshnoudi-Nia, S., Rostamabadi, H., Falsafi, S. R., Shaddel, R., Akbari-Alavijeh, S., & Jafari, S. M. (2021). Green biopolymers from by-products as wall materials for spray drying microencapsulation of phytochemicals. *Trends in Food Science & Technology*, 108, 297-325. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.008>
- Santos, N. C., Almeida, R. L. J., Monteiro, S. S., de Lima, T. L. B., da Silva Lúcio, A., da Silva Nogueira, L. P., ... & Rocha, A. P. T. (2025). Microencapsulating *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG by spray drying using pea protein, pectin, and tapioca flour: Probiotic viability, digestibility and thermal stability. *Food and Bioproducts Processing*, 150, 207-216. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2025.01.011>
- Sardar, H., Hadi, F., Alam, W., Halawani, I. F., Alzahrani, F. M., Saleem, R. A., Cerqua, I., Khan, H., & Capasso, R. (2024). Unveiling the therapeutic and nutritious potential of *Vigna unguiculata* in line with its phytochemistry. *Heliyon*, 10(18). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e37911>

- Saviano, A., Brigida, M., Migneco, A., Gunawardena, G., Zanza, C., Candelli, M., Franceshi, F., & Ojetti, V. (2021). *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 (*Limosilactobacillus reuteri*) in diarrhea and constipation: two sides of the same coin?. *Medicina*, 57(7), 643. <https://doi.org/10.3390/medicina57070643>
- Sensoy, I. (2021). A review on the food digestion in the digestive tract and the used in vitro models. *Current research in food science*, 4, 308-319. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.04.004>
- Shah, A. B., Baiseitova, A., Zahoor, M., Ahmad, I., Ikram, M., Bakhsh, A., Shah, M. A., Ali, I., Idress, M., Ullah, R., Nars, F. A., & Al-Zharani, M. (2024). Probiotic significance of *Lactobacillus* strains: A comprehensive review on health impacts, research gaps, and future prospects. *Gut Microbes*, 16(1), 2431643. <https://doi.org/10.1080/19490976.2024.2431643>
- Sharifi-Rad, J., Rodrigues, C. F., Stojanović-Radić, Z., Dimitrijević, M., Aleksić, A., Neffe-Skocińska, K., Zielińska, D., Kołożyn-Krajewska, D., Salehi, B., Prabu, S. M., Schutz, F., Docea, A. O., Martins, N., & Calina, D. (2020). Probiotics: versatile bioactive components in promoting human health. *Medicina*, 56(9), 433. <https://doi.org/10.3390/medicina56090433>
- Silva, M. A., Albuquerque, T. G., Alves, R. C., Oliveira, M. B. P., & Costa, H. S. (2020). Melon (*Cucumis melo* L.) by-products: Potential food ingredients for novel functional foods?. *Trends in Food Science & Technology*, 98, 181-189. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.005>
- Śmiglak-Krajewska, M., Wojciechowska-Solis, J., & Viti, D. (2020). Consumers' purchasing intentions on the legume market as evidence of sustainable behaviour. *Agriculture*, 10(10), 424. <https://doi.org/10.3390/agriculture10100424>
- Sonmezler, D., Sumnu, G., & Sahin, S. (2025). Utilizing Lentil Proteins and Flours for Sustainable Encapsulation and Techno-Functional Applications in Food Technology. *Legume Science*, 7(3), e70040. <https://doi.org/10.1002/leg3.70040>

- Stavropoulou, E., & Bezirtzoglou, E. (2020). Probiotics in medicine: a long debate. *Frontiers in Immunology*, 11, 2192. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.02192>
- Subhash, A. J., Bamigbade, G. B., Al-Ramadi, B., Kamal-Eldin, A., Gan, R. Y., Ranadheera, C. S., & Ayyash, M. (2024). Characterizing date seed polysaccharides: A comprehensive study on extraction, biological activities, prebiotic potential, gut microbiota modulation, and rheology using microwave-assisted deep eutectic solvent. *Food Chemistry*, 444, 138618. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.138618>
- Sultana, M., Chan, E. S., Janarthanan, P., & Choo, W. S. (2023). Functional orange juice with *Lactobacillus casei* and tocotrienol-enriched flaxseed oil co-encapsulation: Physicochemical properties, probiotic viability, oxidative stability, and sensorial acceptability. *Lwt*, 188, 115388. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115388>
- Sun, Q., Yin, S., He, Y., Cao, Y., & Jiang, C. (2023). Biomaterials and encapsulation techniques for probiotics: current status and future prospects in biomedical applications. *Nanomaterials*, 13(15), 2185. <https://doi.org/10.3390/nano13152185>
- Tang, X., Liu, L., Chen, X., Gasaly, N., Benie, A., Brodkorb, A., Poncelet, D., & de Vos, P. (2026). Microencapsulation in alginate-pectin based capsules of probiotic *Lactobacillus plantarum* WCFS1: pectin source and degree of blockwise distribution of methyl esters are critical parameters for the efficacy of protection under gastrointestinal conditions. *Food Hydrocolloids*, 170, 111722. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2025.111722>
- Tyagi, N., Gidlöf, Z., Osanlóo, D. T., Collier, E. S., Kadekar, S., Ringstad, L., Fureby, A. M., & Roos, S. (2023). The impact of formulation and freeze drying on the properties and performance of freeze-dried *Limosilactobacillus reuteri* R2LC. *Applied Microbiology*, 3(4), 1370-1387. <https://doi.org/10.3390/applmicrobiol3040092>
- Utami, M. M. D., Dewi, A. C., & Ningsih, N. (2022). Potential of tamarind seeds (*Tamarindus indica* L.) as prebiotics on the growth of lactic acid bacteria. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. IOP Publishing, vol. 980, No. 1, p. 012017. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/980/1/012017>

- Vaselabadi, S. A., Gharibzahedi, S. M. T., Greiner, R., Vale, J. M., Ovenseri, A. C., Rashidinejad, A., & Roohinejad, S. (2025). Advancements in Spray-Drying for the Microencapsulation of Fat-Soluble Vitamins: Stability, Bioavailability, and Applications. *Journal of Food Biochemistry*, 2025(1), 9974476. <https://doi.org/10.1155/jfbc/9974476>
- Xiao, Z., Xia, J., Zhao, Q., Niu, Y., & Zhao, D. (2022). Maltodextrin as wall material for microcapsules: A review. *Carbohydrate polymers*, 298, 120113. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.120113>
- Xin, M., Zhao, M., Tian, J., & Li, B. (2023). Guidelines for in vitro simulated digestion and absorption of food. *Food Frontiers*, 4(1), 524-532. <https://doi.org/10.1002/fft2.186>
- Xiong, R. G., Zhou, D. D., Wu, S. X., Huang, S. Y., Saimaiti, A., Yang, Z. J., Shang, A., Zhao, C. N., Gan, R. Y., & Li, H. B. (2022). Health benefits and side effects of short-chain fatty acids. *Foods*, 11(18), 2863. <https://doi.org/10.3390/foods11182863>
- Xu, C., Ban, Q., Wang, W., Hou, J., & Jiang, Z. (2022). Novel nano-encapsulated probiotic agents: Encapsulate materials, delivery, and encapsulation systems. *Journal of Controlled Release*, 349, 184-205. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2022.06.061>
- Yang, L., Gu, T., Xu, Y., Liu, Y., Zhang, Y., Jiang, Z., & Peng, L. (2022). Plant polysaccharides as novel biomaterials for microcapsule construction and therapeutics delivery. *International journal of pharmaceutics*, 625, 122137. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2022.122137>
- Yanni, A. E., Kokkinos, A., Binou, P., Papaioannou, V., Halabalaki, M., Konstantopoulos, P., Simati, S., & Karathanos, V. T. (2022). Postprandial Glucose and Gastrointestinal Hormone Responses of Healthy Subjects to Wheat Biscuits Enriched with L-Arginine or Branched-Chain Amino Acids of Plant Origin. *Nutrients*, 14(20), 4381. <https://doi.org/10.3390/nu14204381>
- Yeung, Y. K., Kang, Y. R., & Chang, Y. H. (2024). Synbiotic encapsulation with Maillard reaction product and okra Pectic oligosaccharide to enhance the survival of

Lactiplantibacillus Plantarum. *Food and Bioprocess Technology*, 17(2), 409-423.
<https://doi.org/10.1007/s11947-023-03141-x>

- Yong, S. J., Tong, T., Chew, J., & Lim, W. L. (2020). Antidepressive mechanisms of probiotics and their therapeutic potential. *Frontiers in Neuroscience*, 13, 1361. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.01361>
- You, S., Ma, Y., Yan, B., Pei, W., Wu, Q., Ding, C., & Huang, C. (2022). The promotion mechanism of prebiotics for probiotics: A review. *Frontiers in Nutrition*, 9, 1000517. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1000517>
- Yu, Z., Chen, J., Liu, Y., Meng, Q., Liu, H., Yao, Q., Song, W., Ren, X., & Chen, X. (2023). The role of potential probiotic strains *Lactobacillus reuteri* in various intestinal diseases: New roles for an old player. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1095555. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1095555>
- Žaja, O., Fiolčić, M., Ćuk, M. C., & Tiljak, M. K. (2021). The role of *L. reuteri* DSM17938 in nutritional recovery and treatment of constipation in children and adolescents with anorexia nervosa-a randomized, double blind, placebo controlled study. *Clinical nutrition ESPEN*, 46, 47-53. <https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2021.08.016>
- Zendeboodi, F., Khorshidian, N., Mortazavian, A. M., & Da Cruz, A. G. (2020). Probiotic: conceptualization from a new approach. *Current Opinion in Food Science*, 32, 103-123. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.03.009>
- Zhang, D., Jian, Y. P., Zhang, Y. N., Li, Y., Gu, L. T., Sun, H. H., Liu, M. D., Zhou, H. L., Wang, Y. S., & Xu, Z. X. (2023). Short-chain fatty acids in diseases. *Cell Communication and Signaling*, 21(1), 212. <https://doi.org/10.1186/s12964-023-01219-9>
- Zhang, Y., Si, X., Yang, L., Wang, H., Sun, Y., & Liu, N. (2022). Association between intestinal microbiota and inflammatory bowel disease. *Animal Models and Experimental Medicine*, 5(4), 311-322. <https://doi.org/10.1002/ame2.12255>
- Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M., Harris, H. M., Mattarelli, P., Toole, P. W. O., Pot, B., Vandamme, P., Walter, J., Watanabe, K., Wuyts, S., Felis, G. E., Gänzle, M. G., & Lebeer, S. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of

23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(4), 2782-2858. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107>

Zhou, H., Tan, Y., & McClements, D. J. (2023). Applications of the INFOGEST in vitro digestion model to foods: A review. *Annual Review of Food Science and Technology*, 14(1), 135-156. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-060721-012235>

CAPÍTULO II

Objetivos

1. Objetivos

1.1. Objetivo geral

Avaliar o potencial prebiótico da farinha de feijão-de-corda verde (FFCV) e sua aplicação como material de revestimento no encapsulamento de *Limosilactobacillus reuteri*, com foco na proteção e na manutenção da viabilidade do probiótico em condições adversas.

1.2. Objetivos específicos

- Obter e caracterizar a FFCV quanto à composição química e parâmetros físico-químicos;
- Obter a farinha de feijão-de-corda verde digerida (FFCVD) por meio da digestão gastrointestinal *in vitro*;
- Determinar o teor de compostos fenólicos totais e o perfil fenólico da FFCV e da FFCVD;
- Caracterizar a FFCV e a FFCVD quanto aos grupos funcionais e às diferenças estruturais por espectroscopia no infravermelho médio com transformada de Fourier (FTIR);
- Avaliar o escore de atividade prebiótica da FFCV e da FFCVD em comparação ao frutooligossacarídeo (FOS), prebiótico comercial consagrado, a fim de verificar a capacidade dessas matrizes de estimular seletivamente o crescimento de *Lmb. reuteri* em comparação a *Escherichia coli*;
- Avaliar os efeitos da FFCV e da FFCVD na atividade metabólica de *Lmb. reuteri* durante fermentação colônica *in vitro*, por meio da viabilidade celular, variação do pH e produção de ácidos orgânicos;
- Desenvolver microcápsulas contendo *Lmb. reuteri* utilizando FFCV como material de revestimento, combinada com maltodextrina e pectina, pelo método de secagem por atomização;
- Investigar o efeito das diferentes concentrações dos materiais de parede no comportamento reológico das soluções encapsulantes e a eficiência de encapsulamento;
- Caracterizar as soluções encapsulantes e as microcápsulas por MIR, microscopia eletrônica de varredura, atividade água, teor de umidade, solubilidade, cor instrumental e calorimetria diferencial de varredura;

- Avaliar a viabilidade celular de *Lmb. reuteri*, livre e microencapsulado durante a digestão gastrointestinal *in vitro*.

CAPÍTULO III

Artigo I

Potencial prebiótico da farinha de feijão-de-corda (*Vigna unguiculata*) verde: resistência à digestão gastrointestinal *in vitro* e fermentação seletiva por *Limosilactobacillus reuteri*

Resumo

A busca por ingredientes alimentares com potencial funcional e benéficos à saúde intestinal tem impulsionado o interesse por substratos prebióticos de origem vegetal. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo caracterizar a composição química da farinha de feijão-de-corda verde (FFCV), avaliar sua resistência à digestão gastrointestinal e investigar o potencial prebiótico da farinha integral e de sua fração não absorvível pós-digestão, por meio da fermentação colônica *in vitro* com *Limosilactobacillus reuteri*, em comparação com o frutooligossacarídeo (FOS), utilizado como prebiótico de referência. A FFCV foi obtida a partir de grãos de feijão-de-corda verde, tendo sido determinadas sua composição química e suas propriedades físicas. Posteriormente, foi submetida à digestão gastrointestinal *in vitro*, obtendo-se a fração não absorvível pós-digestão (FFCVD). A FFCV e a FFCVD foram investigadas quanto ao perfil fenólico, ao escore de atividade prebiótica e à atividade metabólica (contagem de células viáveis, modulação do pH e produção de ácidos orgânicos), por meio de ensaios de fermentação, na concentração de 20 g/L, por 48 horas. A FFCV apresentou teor de carboidratos (63,50 %) e de proteínas (22,7 %) elevados, além de um perfil fenólico caracterizado pela presença de ácido gálico, ácido clorogênico, ácido sirínico, ácido cumárico e rutina. Tanto a FFCV quanto a FFCVD apresentaram escores positivos de atividade prebiótica (0,88 – 1,23), superiores ou próximos ao do FOS (0,73), além de favorecerem a manutenção da viabilidade celular (8,45 – 8,48 Log₁₀ UFC/mL), a acidificação moderada do meio e a produção de ácidos orgânicos (acético, butírico, láctico e propiônico) compatíveis com um perfil fermentativo favorável. Esses efeitos indicam o potencial da FFCV como substrato prebiótico, tanto em sua forma integral quanto após a digestão gastrointestinal, destacando sua aplicabilidade como ingrediente de origem vegetal para o desenvolvimento de alimentos com potencial de promoção da saúde intestinal.

Palavras-chave: Leguminosas; Atividade prebiótica; Digestão *in vitro*; Microbiota intestinal.

1. Introdução

A demanda crescente por alimentos funcionais tem impulsionado o desenvolvimento de ingredientes alimentares capazes de modular a microbiota intestinal e promover efeitos fisiológicos e metabólicos benéficos, tanto no trato gastrointestinal quanto em níveis sistêmicos (Ahmed et al., 2022; Abdi & Joye, 2021).

Entre esses ingredientes, os prebióticos destacam-se por serem substratos não digeríveis utilizados de forma seletiva por microrganismos do hospedeiro, conferindo benefícios à saúde, conforme definido pela International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) (Gibson et al., 2017). Os principais prebióticos incluem carboidratos

complexos, como galacto-oligossacarídeos (GOS), frutooligossacarídeos (FOS) e frações de amido resistente (Guimarães et al., 2020).

Além dos carboidratos complexos, os compostos fenólicos têm sido explorados e apontados como potenciais agentes com efeito prebiótico. Esses compostos podem influenciar a composição e a atividade microbiana, além de atuar na integridade da barreira intestinal, ao servirem como substratos para microrganismos específicos e ao exercerem efeitos antimicrobianos seletivos, inibindo populações indesejáveis e favorecendo o crescimento relativo de bactérias benéficas (Petersen & Mansell, 2025; Ribeiro et al., 2021).

Alimentos de origem vegetal têm sido investigados como fontes alternativas de substratos prebióticos. Esse interesse está alinhado às atuais demandas dietéticas e ao estilo de vida contemporâneo, que valorizam a escolha de ingredientes com rótulo limpo, caracterizados por menor grau de processamento, ausência de aditivos artificiais e formulações com menor complexidade de ingredientes, além de maior naturalidade percebida pelo consumidor. Essas fontes, além de contribuírem para a ampliação do mercado de alimentos funcionais e para o fomento à inovação no setor alimentício, também promovem benefícios nutricionais e econômicos (Sawangwan et al., 2024; Calvete-Torre et al., 2022; Gómez-García et al., 2022; Liao et al., 2022; Moumita & Das, 2022; Utami et al., 2022; De Albuquerque et al., 2020).

Entre as matrizes vegetais, as leguminosas são apontadas como fontes promissoras de frações prebióticas, devido ao seu teor de carboidratos complexos, fibras dietéticas e compostos fenólicos. Essas substâncias resistem parcialmente à digestão no trato gastrointestinal superior e alcançam o cólon, onde são fermentadas pela microbiota intestinal, o que contribui para a produção de metabólitos, como os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), associados à integridade da barreira epitelial, à modulação do sistema imunológico e à saúde metabólica (Kadyan et al., 2023; Kadyan et al., 2022).

Entre as leguminosas, o feijão-de-corda (*Vigna unguiculata* L. Walp.), também conhecido como feijão-caupi ou feijão-fradinho, pertence à família *Fabaceae* e, cultivado em regiões tropicais e subtropicais, apresenta-se como uma possível fonte de prebióticos. Seus grãos, tanto verdes quanto maduros, são uma fonte alimentar de importância socioeconômica, especialmente em países em desenvolvimento, devido ao baixo custo de produção, à alta produtividade ao longo do ano e às suas qualidades nutricionais e nutracêuticas (Ogbole et al., 2023).

Do ponto de vista nutricional, o feijão-de-corda apresenta atributos favoráveis, com baixo teor lipídico e rico em compostos com aplicações biotecnológicas promissoras, como carboidratos complexos (incluindo o amido), fibra dietética, proteínas e minerais. Em termos de composição fitoquímica, contém uma variedade de constituintes fenólicos, como taninos e flavonoides (Abebe & Alemayehu, 2022). Adicionalmente, contém compostos tradicionalmente classificados como antinutricionais, como fitatos, lectinas, saponinas e taninos, que podem reduzir a biodisponibilidade de determinados nutrientes. Entretanto, seus efeitos são dose-dependentes e, em baixas concentrações, seus compostos apresentam propriedades bioativas relevantes, incluindo atividade antioxidante, antimicrobiana e moduladora da resposta imune. Por esse motivo, tais compostos também são descritos como fatores nutricionalmente ativos ou compostos bioativos (Higashijima et al., 2020).

Embora as sementes de feijão-de-corda sejam consumidas principalmente no estágio verde, apresentam vida útil limitada, de aproximadamente três dias sob refrigeração. Essa rápida deterioração está associada ao elevado teor de umidade e à suscetibilidade à contaminação por microrganismos, que pode ocorrer desde o cultivo até as etapas de colheita, processamento e armazenamento (Iacumin & Comi, 2019). Nesse sentido, a conversão do grão em farinha constitui uma estratégia tecnológica viável para prolongar a vida útil e preservar compostos bioativos, além de facilitar o armazenamento, o transporte e a aplicação em diferentes formulações alimentícias (Gu et al., 2020; Millar et al., 2019).

Para avaliar potenciais prebióticos de novas fontes alimentares, especialmente no que se refere à resistência à digestão e à disponibilidade de substratos para fermentação colônica, modelos *in vitro* de digestão gastrointestinal têm sido empregados. Esses modelos simulam as fases oral, gástrica e intestinal, seguidas de fermentação colônica em condições controladas, constituindo uma alternativa viável, reproduzível e eticamente aceitável em comparação aos estudos *in vivo* (Yu et al., 2024; Isenring et al., 2023; Sing et al., 2022)

Para a triagem de fermentabilidade colônica, microrganismos probióticos, como *Limosilactobacillus reuteri* (*Lmb. reuteri*), são comumente empregados devido à sua capacidade de sobreviver ao trato gastrointestinal e de oferecer efeitos benéficos à saúde intestinal (Saviano et al., 2021). Dessa forma, a avaliação da capacidade de diferentes substratos de estimular o crescimento e a atividade metabólica de *Lmb. reuteri* constitui uma abordagem pertinente para a caracterização do potencial prebiótico de novas matrizes alimentares.

Apesar do potencial do feijão-de-corda, faltam estudos que avaliem de forma integrada a composição química, a resistência à digestão gastrointestinal e a fermentabilidade colônica da farinha de feijão-de-corda verde (FFCV), especialmente em comparação com prebióticos comerciais consolidados, como o FOS. Assim, o presente estudo teve como objetivo caracterizar a composição química da FFCV, avaliar sua resistência à digestão gastrointestinal e investigar o potencial prebiótico da farinha integral e de sua fração não absorvível pós-digestão, por meio da fermentação colônica *in vitro* com *Lmb. reuteri*, em comparação ao FOS.

2. Metodologia

2.1. Obtenção da matéria-prima e preparo da FFCV

O feijão-de-corda foi adquirido de produtor da região de Itapetinga, Bahia, Brasil (15° 14' 40" Sul 40° 16' 38" Oeste), no estágio de maturidade fisiológica caracterizado por grãos frescos.

A FFCV foi produzida conforme metodologia descrita por Bento et al. (2021), com adaptações. Inicialmente os grãos foram selecionados, higienizados em solução clorada a 200 ppm por 15 min e enxaguados em água corrente. Em seguida, foram submetidos à secagem em estufa com circulação de ar (320-SE, Fanem Ltda., Guarulhos, SP, Brasil) a 60 °C até atingir teor de umidade < 10 %. Após a secagem, o material foi triturado em moinho de facas (Willey SL-31, Solab Científica, Campinas, SP, Brasil), com granulometria de 2 mm e a farinha obtida foi acondicionada em sacos de polietileno hermeticamente fechados e armazenada em local seco e fresco, sob temperatura ambiente (25 ± 2 °C), até a realização das análises.

2.2. Determinação dos parâmetros físicos e químicos

O rendimento da FFCV foi calculado com base na massa do grão de feijão *in natura* (M_I) e na massa da farinha obtida após a moagem da matéria-prima desidratada (M_F), conforme a Equação 1.

$$\text{Rendimento (\%)} = (M_F / M_I) \times 100 \quad (1)$$

Os teores de umidade, cinzas e proteínas da FFCV foram determinados conforme as técnicas nº 925.10, nº 923.03 e nº 923.03 da AOAC, respectivamente (AOAC, 1997). Para o teor de lipídeos utilizou-se metodologia descrita por Silva & Queiroz (2002). O teor de carboidratos totais foi calculado por diferença, segundo Millar et al. (2019).

A atividade de água (a_w) foi determinada com um medidor de atividade de água de bancada da AquaLab (Series 3TE, Decagon Devices, Pullman, WA, Estados Unidos). O pH foi determinado em pHmetro de bancada (Q400AS, Quimis, Diadema, SP, Brasil), de acordo com o método nº 981.12 da AOAC (AOAC, 2016). A acidez titulável foi determinada por titulação com solução de NaOH 0,1 mol/L (LabMaster Comércio de Produtos Científicos Ltda., São José dos Pinhais, PR, Brasil), conforme a técnica nº 942.15 da AOAC (AOAC, 2016).

2.3. Avaliação do padrão microbiológico da FFCV

Para avaliar a carga microbiana da FFCV, foram realizadas análises de *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* e *Salmonella*, conforme recomendação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), para cereais, farinhas, massas alimentícias e produtos de panificação, por meio da Instrução Normativa (IN) nº 161, de 1 de julho de 2022 (Brasil, 2022), seguindo metodologia descrita no Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água (Da Silva et al., 2017).

2.4. Digestão gastrointestinal *in vitro* da FFCV

A digestão gastrointestinal *in vitro* foi conduzida por meio de variações de pH e temperatura, sob agitação mecânica para simular movimentos peristálticos, e com ação enzimática [α -amilase (A1031), pepsina (P7012) e pancreatina (P7545) (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, Estados Unidos)] e bile bovina (B3883) (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, Estados Unidos), além de etapa de absorção intestinal simulada por diálise. O protocolo foi realizado conforme descrito por Da Silva et al. (2024), Massa et al. (2022) e De Albuquerque et al. (2020), com adaptações.

Inicialmente, 10 g de FFCV foram suspensos em 50 mL de água destilada estéril e homogeneizados por 5 min. Para simular a fase oral, uma solução de α -amilase (3,33 mg) e CaCl_2 1 mol/L (1,04 mL) (Vetec Química Fina Ltda., Duque de Caxias, RJ, Brasil) foi adicionada à amostra e incubada a 37 °C por 2 min a 130 rpm. Em seguida, a fase gástrica foi

conduzida ajustando o pH da mistura para 2,0-2,5 com HCl 1 mol/L (Ecibra, São Paulo, SP, Brasil). Posteriormente, foi adicionada uma solução de pepsina (0,45 g) e HCl 0,1 mol/L (4,16 mL), seguida de incubação a 37 °C por 2 h a 130 rpm. Para a digestão intestinal, bile (0,58 g) e pancreatina (0,93 g) foram dissolvidas em NaHCO₃ 0,5 mol/L (20,8 mL) (Labsynth Produtos para Laboratórios Ltda., Diadema, SP, Brasil) e incorporadas à amostra. O pH foi ajustado para 6,5-7,0 com NaHCO₃ a 1 mol/L, e a mistura foi mantida a 37 °C por 2 h a 45 rpm.

Ao término da digestão, a amostra foi transferida para uma membrana de diálise com corte de peso molecular de 1 kDa (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, Estados Unidos) previamente hidratada em água destilada a 60 °C por 30 min. A membrana foi imersa em uma solução de NaCl 0,01 mol/L e mantida a 5 °C por 15 h. O fluido da diálise foi substituído por uma nova solução de NaCl e o processo continuou por mais 2 h. No final, a fração que atravessou a membrana foi considerada biodisponível para absorção na corrente sanguínea, enquanto a fração retida representou o material não absorvível, disponível para fermentação pela microbiota intestinal. O conteúdo retido foi congelado a -18 °C e liofilizado (temperatura: -50 ± 2 °C, pressão do vácuo: <0,120 mBar) por 72 h em liofilizador de bancada (FreeZone 4.5, Labconco, Kansas City, MO, Estados Unidos). As amostras liofilizadas foram acondicionadas em sacos de polietileno hermeticamente fechados, armazenadas a 4 °C e denominadas farinha de feijão-de-corda verde digerida (FFCVD).

2.5. Determinação do teor de compostos fenólicos totais da FFCV e FFCVD

O teor de compostos fenólicos totais da FFCV e da FFCVD foi determinado conforme metodologia descrita por Bento et al. (2021), com adaptações.

Inicialmente, realizou-se a extração dos compostos fenólicos. Para isso, 0,5 g de cada amostra foi solubilizada em 20 mL de solução de metanol 70 % (v/v) (Êxodo Científica, Sumaré, SP, Brasil) e submetida à agitação em incubadora shaker (SL-222/E, Solab Científica, Piracicaba, SP, Brasil) a 25 °C por 30 min a 100 rpm. Em seguida, foram centrifugadas em centrífuga (CT-6000R, Cientec Equipamentos Científicos Ltda., Belo Horizonte, MG, Brasil) a 2800 g por 10 min a 4 °C. Os sobrenadantes foram coletados e armazenados em frascos de vidro âmbar a -18 °C até a realização das análises.

A determinação do conteúdo de fenólicos totais foi realizada pelo método de Folin-Ciocalteu. Em tubos de ensaio foram adicionados 0,5 mL dos extratos das amostras, 2,5 mL

de solução de Folin-Ciocalteu a 10 % (v/v) (Dinâmica Química Contemporânea Ltda., Indaiatuba, SP, Brasil) e 2,0 mL de solução de carbonato de sódio a 7,5 % (m/v) (Dinâmica Química Contemporânea Ltda., Indaiatuba, SP, Brasil). As misturas foram homogeneizadas e mantidas ao abrigo da luz a 25 °C por 2 h. Posteriormente, a absorbância foi medida em espectrofotômetro (SP 2000 UV, Bel Photonics, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) a 765 nm. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (Neon Comercial Reagentes Analíticos Ltda., Suzano, SP, Brasil) (EAG)/100 g de FFCV ou FFCVD.

2.6. Perfil dos compostos fenólicos da FFCV e FFCVD

O perfil dos compostos fenólicos da FFCV e da FFCVD foi determinado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (DGU-20A5, Shimadzu, Kyoto, Japão), acoplada a um detector UV-VIS (SPD-M20A, Shimadzu, Kyoto, Japão).

Os extratos das amostras foram preparados conforme metodologia descrita no item 2.4. Os extratos foram filtrados com filtros estéreis de 0,22 µm e analisados na coluna RP-LC (Zorbax SB-C18, 4,6 mm ID x 250 mm, 5 µm) acoplada à coluna de guarda (Zorbax SB-C18, 4,6 mm ID x 12,5 mm, 5 µm). A fase móvel consistiu em solução aquosa de ácido acético a 2,5 % (v/v) (solvente A) (Vetec, Duque de Caxias, RJ, Brasil) e acetonitrila (solvente B) (Dinâmica Química Contemporânea Ltda., Indaiatuba, SP, Brasil), a uma taxa de fluxo de 1 mL/min. O programa de eluição em gradiente foi estabelecido da seguinte forma: 0 a 13 min, 3% de B; 13 a 18 min, 9% de B; 18 a 25 min, 11% de B; 25 a 45 min, 18% de B; 45 a 50 min, 30% de B; e em 50 min, 3% de B. Os cromatogramas foram registrados a 280 nm. Os picos cromatográficos foram identificados por comparação dos tempos de retenção dos padrões analíticos de ácido gálico, ácido clorogênico, ácido sirínico, ácido cumárico e rutina (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, Estados Unidos) e a quantificação foi realizada por meio da regressão das curvas dos padrões correspondentes (Muhammad et al., 2022).

2.7. Índice de bioacessibilidade

O índice de bioacessibilidade (IB) foi utilizado para avaliar o efeito da digestão *in vitro* na composição fenólica da FFCV. O IB foi calculado utilizando a Equação 2, conforme descrito anteriormente por Honaiser et al. (2023).

$$IB (\%) = (A/B) \times 100 \quad (2)$$

Onde: A é o teor de compostos fenólicos após a digestão *in vitro* e B é o teor de compostos fenólicos antes da digestão *in vitro*.

2.8. Análise espectroscópica da FFCV e FFCVD

As amostras de FFCV e da FFCVD foram caracterizadas quanto aos grupos funcionais e às diferenças estruturais por espectroscopia no infravermelho médio (MIR) com transformada de Fourier e reflexão total atenuada (FTIR-ATR) (Cary 630, Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, Estados Unidos), equipado com cristal de diamante, conforme metodologia de Santos et al. (2021), com adaptações. Os espectros foram obtidos na faixa espectral de 4000 a 600 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e varredura de 64 scans. Aproximadamente 0,1 g de cada amostra foi colocada sobre a superfície do cristal de diamante, onde incidiam os raios na faixa do infravermelho, obtendo-se os espectros no modo de absorbância. Antes de cada coleta o espectro de fundo branco foi verificado. Durante a análise, a temperatura ambiente foi mantida em torno de 25 °C. O software utilizado para a aquisição dos espectros foi o Agilent MicroLab PC, e as máximas absorbâncias observadas na faixa de número de onda foram utilizadas como variáveis de estudo.

2.9. Microrganismos e condições de cultivo

Foram utilizados dois microrganismos, a bactéria probiótica *Lmb. reuteri* (DSM 17938), obtida a partir do suplemento alimentar comercial ProVance (Aché, Brasil) e a bactéria patogênica entérica *Escherichia coli* (ATCC 29922), cedida pela Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Ilhéus-BA.

As suspensões de células foram preparadas conforme descrito por De Albuquerque et al. (2020), com adaptações:

- *Lmb. reuteri*: A cepa liofilizada (1×10^8 UFC/360 mg) foi dissolvida em caldo Man-Rogosa-Sharpe (MRS) (Neogen Culture Media, Estados Unidos) e incubada em estufa tipo BOD (CE-300/350, Cienlab Equipamentos Científicos Ltda., Campinas, SP, Brasil) a 37 °C por 24 h. Após a incubação, as células foram coletadas por centrifugação (CT-6000R, Cientec Equipamentos Científicos Ltda., Belo Horizonte, MG, Brasil) a 4500 g por 15 min a 4 °C. O pellet foi lavado duas vezes com solução salina estéril (NaCl) a 0,9 % (m/v) (Vetec Química Fina Ltda., Duque de Caxias, RJ, Brasil), novamente centrifugado e ressuspenso na mesma solução. Em seguida, a densidade óptica (DO) da suspensão foi ajustada para 1,000, medida a

600 nm, utilizando-se um espectrofotômetro (SP 2000 UV, Bel Photonics, Rio de Janeiro, RJ, Brasil). A concentração celular foi determinada por meio de diluições seriadas, plaqueamento em triplicata em ágar MRS, com a técnica de microgotas, seguido de incubação a 37 °C por 48 h. Após a contagem das unidades formadoras de colônias (UFC), a suspensão apresentou concentração final em torno de 8 Log₁₀ UFC/mL.

- *E. coli*: A cepa foi cultivada em caldo Mueller-Hinton (MH) (Kasvi, Itália) a 37 °C por 20 h. Os procedimentos de coleta de células foram os mesmos descritos anteriormente para *Lmb. reuteri*. A DO da suspensão foi ajustada para 0,100, medida a 600 nm e a concentração celular foi determinada por meio de diluições seriadas, plaqueamento em triplicata em ágar MH, com a técnica de microgotas, e incubação a 37 °C por 24 h. A suspensão obtida forneceu concentração aproximada de 7 Log₁₀ UFC/mL.

2.10. Preparo dos meios de cultivo

Os meios de cultivo MRS e MH, com fontes de carbono modificadas, foram preparados e utilizados para avaliar, respectivamente, o crescimento de *Lmb. reuteri* e *E. coli*, bem como para investigar os potenciais efeitos prebióticos da FFCV e da FFCVD, conforme a metodologia descrita por Mafaldo et al. (2024), com adaptações. As fontes de carbono utilizadas foram (20 g/L): i) glicose (Labsynth Produtos para Laboratórios Ltda., Diadema, SP, Brasil), componente não prebiótico e fonte de carbono amplamente utilizada no cultivo de bactérias lácticas; ii) FOS (Nutrtec Tecnologia em Nutrientes, Ribeirão Preto, SP, Brasil), prebiótico comercialmente conhecido em nível mundial; iii) FFCV; iv) FFCVD. Após o preparo, os meios foram devidamente homogeneizados e esterilizados, conforme as recomendações para cada formulação. A composição detalhada dos meios de cultivo com fonte de carbono modificada encontra-se descrita no material suplementar.

2.11. Determinação dos escores da atividade prebiótica da FFCV e FFCVD

O potencial prebiótico da FFCV e da FFCVD foi avaliado por meio do escore de atividade prebiótica, com o objetivo de verificar a capacidade dessas matrizes de estimular, de forma seletiva, o crescimento de *Lmb. reuteri* em comparação a *E. coli*. O procedimento foi conduzido conforme descrito por Mafaldo et al. (2024), com adaptações.

Alíquota de 200 µL da suspensão de células de *Lmb. reuteri* foi inoculada em 10 mL de caldo MRS com fonte de carbono modificada (glicose, FOS, FFCV ou FFCVD).

Paralelamente, 200 µL da suspensão de células de *E. coli* foram inoculados em 10 mL de caldo MH contendo as mesmas fontes de carbono. Em seguida, as amostras foram homogeneizadas e incubadas a 37 °C por 48 h. Posteriormente, 1 mL de cada caldo com diferentes fontes de carbono foi coletado, diluído em 9 mL de solução salina estéril a 0,9 % (m/v) e homogeneizado. Em seguida, realizaram-se diluições seriadas e o plaqueamento em triplicata, utilizando a técnica de microgotas em ágar MRS (para *Lmb. reuteri*) e MH (para *E. coli*), com incubação a 37 °C por 48 e 24 h, respectivamente. A contagem das células foi expressa em Log₁₀ UFC/mL e os valores obtidos foram aplicados na Equação 3.

$$\text{Escore} = [(N_{P48} - N_{P0}) / (G_{P48} - G_{P0})] - [(N_{E48} - N_{E0}) / (G_{E48} - G_{E0})] \quad (3)$$

Onde: N representa o número de células viáveis (Log₁₀ UFC/mL) para as fontes de carbono FOS, FFCV ou FFCVD e G representa o número de células viáveis (Log₁₀ UFC/mL) utilizando glicose. Os subscritos P e E representam, respectivamente, as cepas de *Lmb. reuteri* e de *E. coli*, enquanto 0 e 48 indicam os tempos analisados em h.

2.12. Avaliação dos efeitos da FFCV e FFCVD na atividade metabólica de *Lmb. reuteri* durante fermentação colônica *in vitro*

A atividade metabólica de *Lmb. reuteri* em caldos de cultivo contendo FFCV e FFCVD foi avaliada por meio da viabilidade celular, da variação do pH e da produção de ácidos orgânicos durante a fermentação colônica *in vitro*, conforme descrito por Yuan et al. (2023) e De Albuquerque et al. (2020), com adaptações.

Nos tempos de incubação de 0, 6, 12, 18, 24 e 48 h, foram determinados a contagem de células viáveis e os valores de pH, conforme metodologias descritas nos itens 2.11 e 2.2, respectivamente.

A quantificação dos ácidos orgânicos foi realizada por CLAE (DGU-20A5, Shimadzu, Kyoto, Japão), acoplada a um detector UV-VIS (SPD-M20A, Shimadzu, Kyoto, Japão). As amostras dos caldos de cultivo com diferentes fontes de carbono foram coletadas nos tempos de 12, 24 e 48 h. Alíquotas de 20 µL, devidamente filtradas com filtros estéreis de 0,22 µm, foram injetadas e analisadas na coluna HPX-87H (7,8 x 300 mm) (Bio-rad, Hercules, CA, Estados Unidos), operada a 45 °C sob condições isocráticas, utilizando ácido sulfúrico a 0,005 mol/L (Dinâmica Química Contemporânea Ltda., Indaiatuba, SP, Brasil) como fase móvel, com fluxo de 0,6 mL/min e tempo de corrida de 30 min. Os picos

cromatográficos foram identificados em comparação com os tempos de retenção dos padrões analíticos de ácidos acético, butírico, láctico e propiônico (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, Estados Unidos) e quantificados por meio da regressão das curvas obtidas com os padrões correspondentes.

2.13. Análise estatística

Os experimentos foram conduzidos em três repetições e os dados foram analisados por meio de análise de variância (ANOVA). Para os resultados significativos, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a um nível de significância de 95 % ($p < 0,05$). Os cálculos estatísticos foram realizados no software *Statistical Analysis System* (SAS).

3. Resultados e Discussão

3.1. Parâmetros físicos e químicos da FFCV

Na Tabela 1 são apresentados os resultados da composição química e dos parâmetros físicos e químicos da FFCV utilizada em ensaios para avaliar potenciais propriedades prebióticas.

Tabela 1. Valores médios $\pm$ desvios-padrão dos parâmetros físicos e químicos da FFCV.

Parâmetros	FFCV
Rendimento (%)	32,00 $\pm$ 1,73
Umidade (%)	8,23 $\pm$ 0,11
Cinzas (%)	3,75 $\pm$ 0,07
Lipídeos (%)	1,79 $\pm$ 0,82
Proteínas (%)	22,74 $\pm$ 0,66
Carboidratos totais (%)	63,50 $\pm$ 1,36
a_w	0,37 $\pm$ 0,00
pH	6,23 $\pm$ 0,02
Acidez titulável (g/100 g)	8,19 $\pm$ 0,21

FFCV: farinha de feijão-de-corda verde; a_w : atividade de água.

O rendimento obtido na produção da FFCV pode ter sido influenciado por diferentes fatores, incluindo a remoção de componentes indesejáveis, as características intrínsecas dos grãos (dureza, morfologia, composição) e as configurações operacionais do moinho (De Bock et al., 2021). Esse parâmetro constitui um importante indicador da viabilidade do processo, uma vez que está diretamente relacionado ao aproveitamento da matéria-prima e à eficiência operacional.

O teor de umidade foi inferior aos valores relatados para farinhas de fava, ervilha verde e ervilha amarela (10,60 a 13,35 %) (Millar et al., 2019), bem como ao limite de 14 % sugerido como referência para produtos farináceos, uma vez que pode inibir o crescimento microbiano e favorecer a estabilidade durante o armazenamento, sem a necessidade de condições mais rigorosas de conservação (Adebo, 2025).

O teor de cinzas enquadrou-se nos valores obtidos por Gu et al. (2020), que estudaram diferentes variedades de feijão (2,91 a 4,53 %), o que indica a presença de minerais essenciais, como sódio, cálcio, magnésio, potássio, ferro, manganês, cobre e zinco. O baixo teor lipídico, semelhante aos valores relatados por Locali-Pereira et al. (2022) (1,2 a 1,9 %), sugere menor susceptibilidade à oxidação lipídica.

Para proteínas, observou-se valor comparável ao da farinha de feijão-marinho (22,72 %) (Kenar et al., 2020), evidenciando o potencial da FFCV como fonte de proteínas. Esse conteúdo atende aos critérios para alegação de alimento rico em proteínas (≥ 20 % da energia total proveniente de proteínas), reforçando sua aplicabilidade no enriquecimento nutricional de produtos alimentícios (Millar et al., 2019).

A composição da FFCV foi caracterizada pelo elevado teor de carboidratos, com valores semelhantes aos de feijão-fradinho (64,5 a 67,9 %), feijão-mungo (63,8 a 65,3 %) e feijão-caupi (54,9 a 66 %) (Locali-Pereira et al., 2022; Rengadu et al., 2020). Essa fração de carboidratos pode incluir polissacarídeos não digeríveis, como amido resistente e fibras alimentares, componentes reconhecidos por apresentarem propriedades análogas às dos prebióticos e contribuírem para a modulação da microbiota intestinal (Abebe & Alemayehu, 2022; Kadyan et al., 2022).

A a_w encontrada indicou baixa disponibilidade de água livre, condição que pode limitar reações microbiológicas e químicas indesejáveis. Os valores de pH e a acidez são compatíveis com a presença de ácidos orgânicos naturalmente presentes na matriz, sendo a acidez um dos fatores importantes na inibição do crescimento de microrganismos deteriorantes e patogênicos (Moussaoui et al., 2024; Arribas et al., 2019; Millar et al., 2019).

A composição química da FFCV demonstra o potencial dessa matriz como ingrediente funcional, com possível efeito prebiótico, uma vez que pode atuar como substrato para microrganismos benéficos do trato gastrointestinal. Esses resultados reforçam sua adequação tecnológica, nutricional e sustentável para aplicação em produtos alimentares, especialmente no desenvolvimento de formulações com melhor perfil glicêmico.

3.2. Padrão microbiológico da FFCV

A IN nº 161, de 1 de julho de 2022, determina que alimentos com presença de *Salmonella* sp. não devem ser comercializados e consumidos, devido ao risco de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA). Para farinhas, a mesma legislação estabelece limites máximos de 10^3 UFC/g para *B. cereus* e 10^2 NMP/g para *E. coli* (Brasil, 2022).

A FFCV apresentou valores inferiores aos limites estabelecidos pela legislação para *B. cereus* ($<10^2$ UFC/g) e *E. coli* (<10 NMP/g), bem como ausência de *Salmonella* sp., o que indica que sua produção foi realizada em conformidade com as exigências higiênico-sanitárias, minimizando riscos à saúde pública. O monitoramento da carga microbiana dos alimentos é de extrema importância, pois permite obter um produto microbiologicamente seguro para o consumo e favorece a conservação e o prolongamento da vida útil (Tavares et al., 2022).

3.3. Teor de compostos fenólicos totais e perfil fenólico da FFCV e da FFCVD

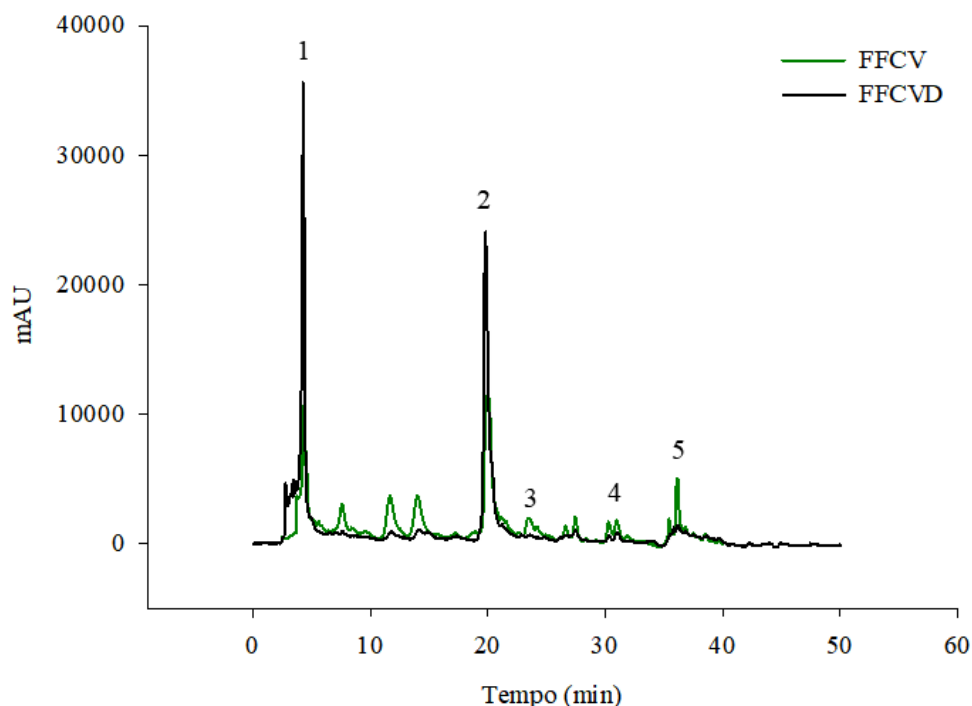
A quantificação dos compostos fenólicos totais da FFCV foi de $108,69 \pm 7,55$ mg EAG/100 g, valor comparável ao reportado para farinhas de feijão-branco (80 a 110 mg EAG/100 g) (Guldiken et al., 2021). No entanto, após a digestão gastrointestinal *in vitro*, observou-se redução significativa ($p \leq 0,05$), com teor de $51,09 \pm 3,63$ mg EAG/100 g, o que corresponde a uma diminuição de 52,86 % da biodisponibilidade dos fenólicos totais.

Comportamento semelhante foi descrito por Zhang et al. (2017), que verificaram uma redução de 49 % na biodisponibilidade dos fenólicos totais em lentilha após o processo digestivo. Sancho et al. (2015) também observaram que os compostos fenólicos do feijão-vermelho e do feijão-preto foram afetados pela digestão, com reduções de 52 % e 75 %, respectivamente.

A diminuição desses compostos após a digestão gastrointestinal *in vitro* indica que cerca da metade do sinal mensurado por Folin-Ciocalteu na FFCV sofreu conversão em metabólitos com reatividade distinta do método de quantificação ou degradação, devido à baixa estabilidade em ambiente alcalino (Ozkan et al. 2023).

O perfil fenólico individual da FFCV e da FFCVD foi obtido por meio da análise de CLAE, e os cromatogramas são apresentados na Figura 1.

Figura 1. Cromatogramas dos compostos fenólicos da FFCV e da FFCVD por CLAE.



1: ácido gálico; 2: ácido clorogênico; 3: ácido sirínigico; 4: ácido cumárico; 5: rutina. FFCV: farinha de feijão-de-corda verde; FFCVD: farinha de feijão-de-corda verde digerida; CLAE: cromatografia líquida de alta eficiência.

Os cromatogramas apresentam picos correspondentes a ácido gálico, ácido clorogênico, ácido sirínigico, ácido cumárico e rutina. Esses compostos já foram relatados em leguminosas por outros pesquisadores (Li et al., 2022; Muhammad et al., 2022; Apea-Bah et al., 2021; Cheng et al., 2020). Ao comparar os cromatogramas da FFCV e da FFCVD, foi possível observar alterações na intensidade dos picos após a digestão gastrointestinal *in vitro*, que foram confirmadas estatisticamente e apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2. Quantificação dos compostos fenólicos da FFCV e da FFCVD por CLAE.

Compostos (mg/g)	Amostras		IB (%)
	FFCV	FFCVD	
Ácido gálico	89,89 ± 8,20 ^B	538,80 ± 5,39 ^A	624,17
Ácido clorogênico	34,73 ± 0,35 ^B	118,55 ± 1,81 ^A	341,40
Ácido sirínigico	5,27 ± 0,62	ND	ND
Ácido cumárico	8,22 ± 0,87 ^A	1,63 ± 0,02 ^B	20,02
Rutina	12,48 ± 1,35 ^A	1,17 ± 0,27 ^B	9,61

FFCV: farinha de feijão-de-corda verde; FFCVD: farinha de feijão-de-corda verde digerida; CLAE: cromatografia líquida de alta eficiência; IB: Índice de bioacessibilidade; ND: Não detectado.

^{A, B} Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Após a digestão, observou-se aumento nas concentrações de ácido gálico e de ácido clorogênico, redução nos teores de rutina e de ácido cumárico, enquanto o ácido sirínico não foi detectado. Honaiser et al. (2023) relataram IB em torno de 365 % para o ácido gálico no feijão-fradinho digerido. Ozkan et al. (2023) observaram um aumento do teor de ácido clorogênico em ervas, com IB em torno de 165 % após a digestão. Zhang et al. (2017) reportaram IB inferior ao limite de quantificação do ácido sirínico em lentilha verde digerida. Reduções acentuadas também foram observadas em compostos mais complexos, como o ácido cumárico da farinha digerida da casca do melão (IB de ≈ 30 %) (Gómez-García et al., 2022) e a rutina, cujo IB foi inferior ao limite de quantificação em frutos secos de framboesa após digestão (Qin et al., 2018).

Esse comportamento pode ser explicado pela ação conjunta de diversas transformações químicas e enzimáticas ao longo do trato gastrointestinal. Sob condições ácidas e pela atividade das enzimas digestivas, ocorrem a clivagem de ésteres, a hidrólise de taninos hidrolisáveis e a liberação de unidades fenólicas de baixo peso molecular e solúveis, elevando, portanto, a detectabilidade desses compostos. Simultaneamente, a hidrólise de glicosídeos (como a rutina) seguida de conjugação ou absorção intestinal reduz a presença da forma parental. Adicionalmente, reações químicas dependentes de pH, como a desmetoxilação e oxidação, convertem compostos parentais em metabólitos que frequentemente não coeluem com os padrões originais ou apresentam resposta reduzida, resultando em não-detecção ou diminuição do sinal cromatográfico do composto inicial (Li et al., 2022; Dong et al., 2021; Wojtunik-Kulesza et al., 2020).

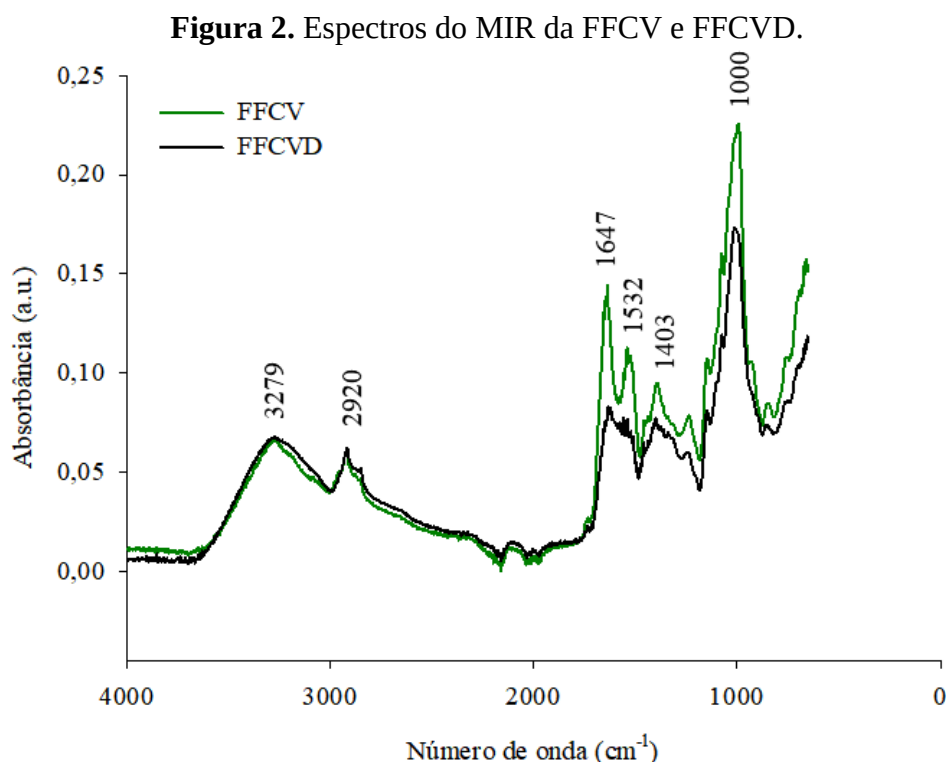
Essas modificações não diminuem a importância fisiológica dos compostos fenólicos. O ácido gálico e o clorogênico apresentam reconhecidas atividades antioxidantes, anti-inflamatórias e moduladoras da microbiota intestinal, associadas à manutenção da integridade da barreira epitelial e à proteção contra o estresse oxidativo. Flavonoides, como a rutina, e seus metabólitos colônicos exercem efeitos prebióticos, favorecem espécies bacterianas benéficas e participam na formação de AGCC, essenciais para a homeostase intestinal (Petersen & Mansell, 2025).

A persistência de compostos bioativos após a digestão gastrointestinal *in vitro* indica que a FFCV mantém potencial funcional, fornecendo moléculas capazes de atuar na microbiota intestinal. Esses resultados corroboram evidências que apontam as leguminosas

como fonte de compostos bioativos com efeitos fisiológicos relevantes, reforçando o potencial do feijão-de-corda como alimento funcional.

3.4. Análise espectroscópica da FFCV e FFCVD

A espectroscopia no MIR foi empregada para identificar os grupos funcionais e observar diferenças estruturais entre a FFCV e a FFCVD. Os espectros de absorbância estão apresentados na Figura 2.



FFCV: Farinha de feijão-de-corda verde; FFCVD: Farinha de feijão-de-corda verde digerida.

Seis bandas principais foram identificadas nos espectros, localizadas aproximadamente em 3279, 2920, 1647, 1532, 1403 e 1000 cm^{-1} , destacando-se por diferenças de intensidade entre as amostras para diferentes grupos funcionais e seus modos vibracionais característicos.

A banda na região de 3279 cm^{-1} indica vibração de alongamento característica do grupo funcional hidroxila (O-H), presente em polissacarídeos, proteínas e compostos fenólicos (Wani et al., 2020). A banda em 2920 cm^{-1} corresponde ao alongamento das ligações C-H das cadeias alifáticas, indicando a presença da fração lipídica, ainda que em baixa concentração (Gunarathne et al., 2022; Wani et al., 2020). As bandas em 1647 e 1532

cm^{-1} são atribuídas aos grupos amida I e amida II, respectivamente, onde são observados os modos de alongamento C=O, C-N e N-H das cadeias peptídicas presentes na amostra (Guldiken et al., 2021; Diblan et al., 2018). A banda observada em 1403 cm^{-1} é devida à deformação angular do alongamento das ligações C-H e O-H, associada à presença de núcleos fenólicos (Resende et al., 2020; Diblan et al., 2018). A banda de máxima absorção localizada na região de 1000 cm^{-1} é típica de polissacarídeos e está relacionada com as vibrações de alongamento C-O e C-C, bem como com as vibrações deformacionais C-C-H, C-O-H e H-C-O (Tas et al., 2022).

Pode-se observar que a digestão gastrointestinal *in vitro* não provocou deslocamento das posições dos espectros, mas resultou em diminuição das intensidades nas regiões associadas às amidas I e II (1647 e 1532 cm^{-1}), ao núcleo fenólico (1403 cm^{-1}) e aos modos sacarídicos (1000 cm^{-1}). Essa atenuação de absorbância decorre da hidrólise enzimática de macromoléculas, resultando na fragmentação das frações proteicas e polissacarídicas presentes na FFCV. Além disso, o processo digestivo pode levar à solubilização e à remoção parcial de compostos fenólicos e oligossacarídeos que originalmente contribuíam para sinais intensos, alterando o ambiente químico dos grupos funcionais remanescentes e reduzindo sua eficiência de absorção na região infravermelha (Ma et al., 2024).

O perfil espectral da FFCV confirma a predominância de polissacarídeos e proteínas e corrobora a presença de compostos fenólicos detectados analiticamente, elementos relevantes para suas propriedades funcionais e atividade biológica. Já as alterações espectrais induzidas pela digestão gastrointestinal *in vitro* sustentam as interferências estruturais e de interação molecular da matriz alimentar, decorrentes da ação das enzimas digestivas e das mudanças de pH.

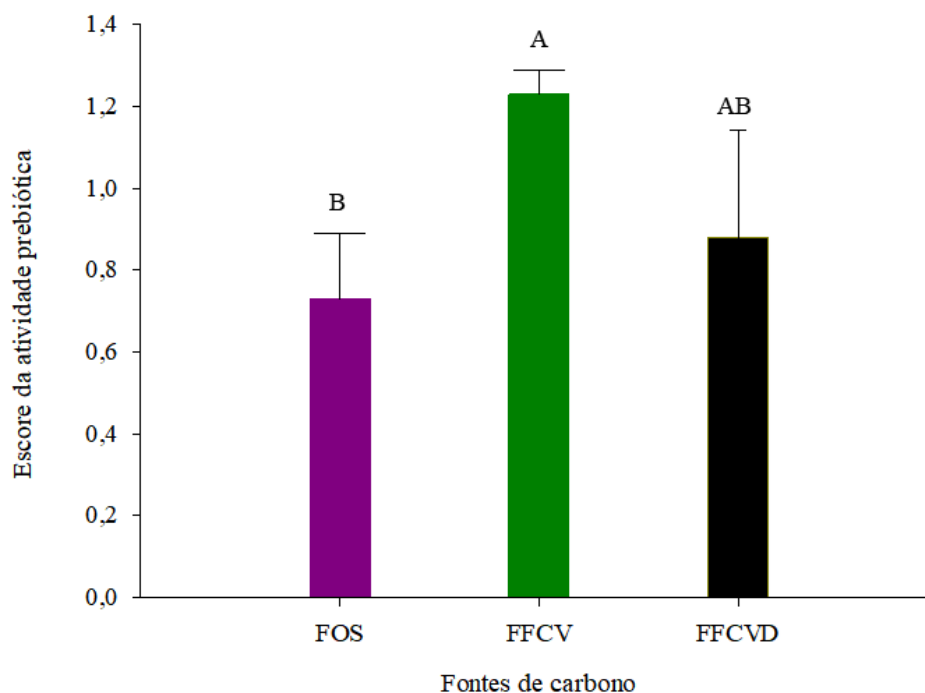
3.5. Escores da atividade prebiótica da FFCV e FFCVD

Os escores da atividade prebiótica da FFCV, da FFCVD e do FOS frente ao *Lmb. reuteri* estão apresentados na Figura 3.

Observou-se escore positivo de atividade prebiótica em todas as fontes de carbono analisadas. No entanto, a FFCV exibiu escore significativamente superior ($p \leq 0,05$) ao FOS, enquanto a FFCVD apresentou valor intermediário, estatisticamente semelhante ($p > 0,05$) tanto à FFCV quanto ao FOS.

Resultados semelhantes foram relatados por Mafaldo et al. (2024), que relataram escore significativamente maior para cultivares de mandioca ourinho ($0,34 \pm 0,00$), seguido de mandioca upira ($0,27 \pm 0,03$), em comparação ao FOS ($0,20 \pm 0,02$), reforçando a consistência observada entre matrizes vegetais ricas em carboidratos complexos.

Figura 3. Escores da atividade prebiótica da FFCV, da FFCVD e do FOS frente ao *Lmb. reuteri*.



FOS: frutooligosacarídeos; FFCV: farinha de feijão-de-corda verde; FFCVD: farinha de feijão-de-corda verde digerida.

^{A, B} Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

O escore mais elevado da FFCV indica sua capacidade de estimular, de forma seletiva, o crescimento de *Lmb. reuteri* em detrimento da bactéria patogênica entérica, característica essencial para que um ingrediente alimentar seja considerado prebiótico (Gibson et al., 2017). Essa seletividade provavelmente decorre da presença de carboidratos mais complexos e compostos bioativos, que podem ser degradados gradualmente, promovendo um efeito prebiótico mais eficiente.

O comportamento da FFCVD, com atenuação do escore após o processo digestivo, indica perda parcial de substratos fermentáveis ou modificação da sua estrutura, o que pode alterar tanto a dinâmica de fermentação quanto os produtos metabólicos gerados. Contudo, o alcance do escore positivo reforça a hipótese de que parte dos constituintes prebióticos resistiu às condições da digestão gastrointestinal *in vitro*, permanecendo potencialmente disponível

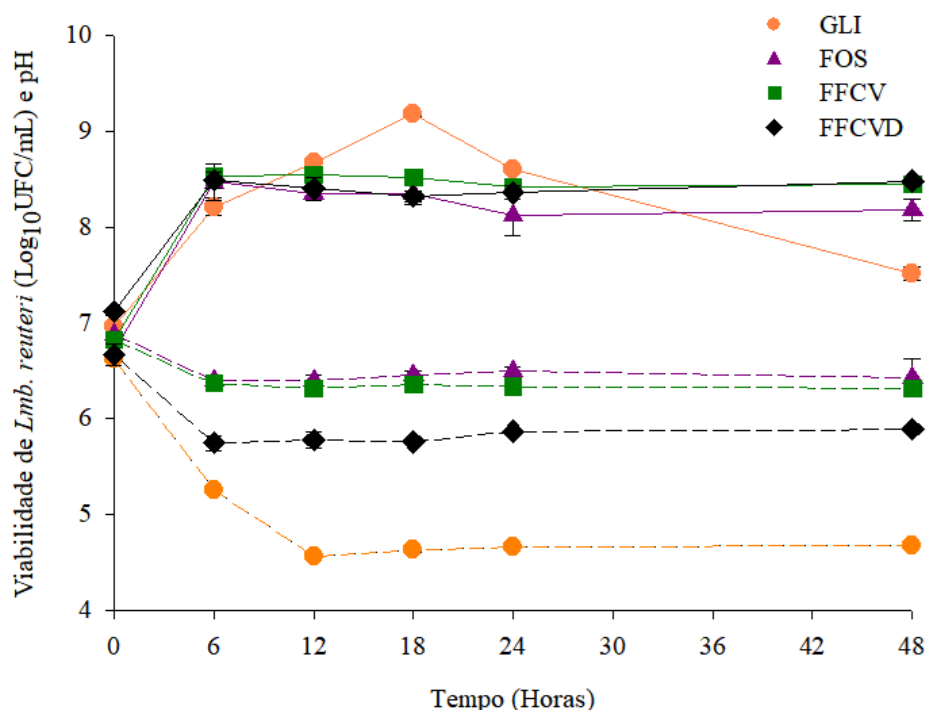
para fermentação colônica e contribuindo para a sobrevivência e a proliferação de *Lmb. reuteri*, bem como para a modulação da microbiota intestinal (Silva et al., 2025; Massa et al., 2022).

3.6. Efeitos da FFCV e FFCVD na atividade metabólica de *Lmb. reuteri* durante fermentação colônica *in vitro*

3.6.1. Viabilidade celular e valores de pH

Na Figura 4 encontram-se as contagens de células viáveis e os valores de pH quando *Lmb. reuteri* foi cultivado em meios contendo glicose, FOS, FFCV e FFCVD por 48 h de fermentação colônica *in vitro*.

Figura 4. Efeito das diferentes fontes de carbono na viabilidade de *Lmb. reuteri* e nos valores de pH durante 48 h de fermentação colônica *in vitro*.



Viabilidade: linha contínua (—); pH: linha tracejada (- - -); GLI: glicose; FOS: frutooligossacarídeos; FFCV: farinha de feijão-de-corda verde; FFCVD: farinha de feijão-de-corda verde digerida.

Durante o cultivo, observou-se consumo de substratos, a proliferação do probiótico, a produção de ácidos orgânicos e a redução do pH, indicando intensa atividade metabólica bacteriana. Em todas as condições, verificou-se um aumento inicial da viabilidade de *Lmb. reuteri* nas primeiras 6 h, indicando o início da divisão celular e o aproveitamento dos

substratos prontamente disponíveis. Após 18 h de fermentação, o meio suplementado com glicose apresentou crescimento mais acelerado, enquanto os meios suplementados com FOS, FFCV e FFCVD exibiram crescimento mais moderado e estável. Ao final do período fermentativo, os meios contendo FFCV e FFCVD promovem maior estabilidade e manutenção da viabilidade de *Lmb. reuteri*, seguidos pelo meio com FOS, enquanto o meio com glicose apresentou a menor contagem de células viáveis.

Resultados semelhantes foram reportados por Mafaldo et al. (2024), que observaram maior proliferação do probiótico *Bifidobacterium animalis* em cultivares de mandioca ourinho ($7,29 \pm 0,07$) e upira ($7,33 \pm 0,14$), em comparação ao controle positivo (FOS) ($6,05 \pm 0,09$) e ao controle negativo (substrato não prebiótico) ($6,27 \pm 0,08$). Sawangwan et al. (2024) também relataram que o extrato de farelo de arroz estimulou o crescimento de *L. casei* (43,10 %) e *L. plantarum* (34,42 %) de forma mais eficaz do que a inulina [*L. casei* (≈ 30 %) e *L. plantarum* (≈ 10 %)].

Quanto ao pH, verificou-se que, nas primeiras horas de fermentação, ocorreu uma queda mais acentuada no meio contendo glicose, seguida daquele contendo FFCVD, enquanto FOS e FFCV mantiveram pH relativamente estável durante o processo fermentativo.

Relato similar foi descrito por Yuan et al. (2023), que encontraram valores de pH semelhantes para β -glucana da cevada e inulina (≈ 5) e acidificação mais intensa, com pH significativamente menor ($\approx 4,5$), para glicose. Jayamanohar et al. (2019) observaram a mesma tendência fermentativa, com valores de pH semelhantes entre polissacarídeo extraído do feijão-vermelho ($5,86 \pm 0,05$) e FOS ($5,59 \pm 0,04$) e redução mais brusca com glicose ($4,85 \pm 0,02$).

Esses resultados demonstraram uma relação direta entre a viabilidade celular e a dinâmica do pH, visto que a acidificação rápida e excessiva do meio coincidiu com a perda parcial da viabilidade de *Lmb. reuteri*, enquanto a acidificação moderada esteve associada à manutenção de altas contagens de células viáveis. Esse comportamento pode ser atribuído à disponibilidade imediata e metabolização da glicose, um monossacarídeo que favorece a adaptação inicial das células, o crescimento mais acelerado nas primeiras horas de fermentação e a produção acumulada de ácidos orgânicos, seguida do possível esgotamento do substrato e de condições ambientais que não sustentam a sobrevivência bacteriana por períodos mais prolongados (Martins et al., 2023; Yuan et al., 2023).

Por outro lado, as menores variações de pH observadas nos meios com FOS, FFCV e FFCVD favoreceram um ambiente metabólico mais estável, propício ao crescimento e à sobrevivência prolongada de *Lmb. reuteri*. Esse efeito é consistente com a hipótese de que substratos complexos promovem a liberação gradual de unidades fermentáveis e a produção moderada de metabólitos secundários, como os ácidos orgânicos, evitando estresses ambientais severos e prolongando a sobrevivência do microrganismo (Raisagar & Shukla, 2022).

Os resultados alcançados reforçam a importância de selecionar adequadamente a fonte de carbono, considerando não apenas a capacidade de estimular o crescimento celular, mas também o seu papel na manutenção da viabilidade microbiana ao longo do tempo.

3.6.2. Produção de ácidos orgânicos

Os teores de ácidos acético, butírico, lático e propiônico produzidos por *Lmb. reuteri* em meios contendo glicose, FOS, FFCV e FFCVD durante 48 h de fermentação colônica *in vitro* são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Conteúdo de ácidos orgânicos (g/L) em meios com diferentes fontes de carbono ao longo de 12, 24 e 48 h de fermentação colônica *in vitro*.

Ácidos orgânicos (g/L)	FC	Tempo de fermentação		
		12 horas	24 horas	48 horas
Acético	GLI	8,83 ± 0,30 ^{Bb}	9,50 ± 0,35 ^{Bb}	10,66 ± 0,38 ^{Aa}
	FOS	8,27 ± 0,22 ^{Ab}	8,48 ± 0,23 ^{Ac}	7,90 ± 0,25 ^{Ab}
	FFCV	10,05 ± 0,33 ^{Aa}	10,58 ± 0,35 ^{Aa}	9,86 ± 0,82 ^{Aa}
	FFCVD	9,62 ± 0,29 ^{Aa}	9,35 ± 0,28 ^{Ab}	9,75 ± 0,77 ^{Aa}
Butírico	GLI	2,77 ± 0,71 ^{Aa}	2,36 ± 0,32 ^{Aa}	2,63 ± 0,61 ^{Aa}
	FOS	3,02 ± 0,63 ^{Aa}	3,04 ± 0,59 ^{Aa}	2,75 ± 0,57 ^{Aa}
	FFCV	3,25 ± 0,65 ^{ABa}	3,57 ± 0,30 ^{Aa}	2,18 ± 0,26 ^{Ba}
	FFCVD	3,13 ± 0,66 ^{Aa}	3,06 ± 0,62 ^{Aa}	3,03 ± 0,63 ^{Aa}
Lático	GLI	20,86 ± 1,53 ^{Aa}	21,46 ± 1,67 ^{Aa}	24,44 ± 1,90 ^{Aa}
	FOS	4,33 ± 0,79 ^{Ab}	4,79 ± 0,86 ^{Ab}	3,39 ± 0,52 ^{Ac}
	FFCV	4,62 ± 1,04 ^{Ab}	4,79 ± 1,10 ^{Ab}	4,05 ± 0,55 ^{Ac}
	FFCVD	6,87 ± 1,02 ^{Ab}	6,82 ± 1,03 ^{Ab}	6,93 ± 0,53 ^{Ab}
Propiônico	GLI	0,71 ± 0,24 ^{Aa}	0,79 ± 0,27 ^{Aa}	0,85 ± 0,34 ^{Aa}
	FOS	0,76 ± 0,28 ^{Aa}	0,77 ± 0,27 ^{Aa}	0,57 ± 0,16 ^{Aa}
	FFCV	0,91 ± 0,31 ^{Aa}	0,94 ± 0,32 ^{Aa}	1,06 ± 0,16 ^{Aa}
	FFCVD	0,90 ± 0,32 ^{Aa}	0,86 ± 0,31 ^{Aa}	0,90 ± 0,31 ^{Aa}

FC: Fonte de carbono; GLI: glicose; FOS: frutooligossacarídeos; FFCV: farinha de feijão-de-corda verde; FFCVD: farinha de feijão-de-corda verde digerida.

^{A, B, C} Letras maiúsculas iguais na mesma linha indicam que não há diferença significativa, pelo teste de Tukey ($p > 0,05$), entre os tempos de fermentação para cada fonte de carbono analisada.

^{a, b, c} Letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa, pelo teste de Tukey ($p > 0,05$), entre as fontes de carbono para cada tempo de fermentação analisado.

Observou-se que somente as fontes de carbono glicose e FFCV influenciaram significativamente ($p \leq 0,05$) os teores de ácido acético e de ácido butírico, respectivamente, durante o processo fermentativo. Em contrapartida, FFCVD e FOS resultaram em produções estatisticamente estáveis, sem variações significativas ($p > 0,05$) entre os tempos analisados.

No final da fermentação, os maiores teores de ácido acético foram observados nos meios com glicose, FFCV e FFCVD. Para o ácido lático, o destaque foi no meio com glicose, seguido pela FFCVD, enquanto FFCV e FOS apresentaram os menores níveis de produção. Quanto aos teores de ácidos butírico e propiônico, observou-se que a produção final foi semelhante ($p > 0,05$) independentemente da fonte de carbono utilizada.

Os resultados encontrados estão diretamente relacionados ao fato de que as bactérias ácido-láticas (BAL), como *Lmb. reuteri*, metabolizam rapidamente carboidratos simples, produzindo ácido lático como principal produto final, enquanto a fermentação de alguns substratos complexos, como os presentes na FFCV e na FFCVD, favorece a formação de uma mistura de metabólitos, como os AGCC (acético, butírico e propionato) (Bangar et al., 2022). Essa característica metabólica justifica a produção abundante de ácido lático e uma composição mais equilibrada de ácidos acético, butírico e propionato. De Albuquerque et al. (2020) observaram maior produção de ácido lático após 48 h de fermentação no meio com glicose ($19,60 \pm 0,03$ a $22,30 \pm 0,02$ g/L), em comparação às demais fontes de carbono analisadas (FOS e farinhas de batata-doce antes e após digestão gastrointestinal *in vitro*).

Mafaldo et al. (2024), Yuan et al. (2023) e Martins et al. (2023) relataram uma tendência semelhante à do presente estudo, evidenciando intensa atividade metabólica decorrente do uso de fontes de carbono não convencionais, como diferentes cultivares de mandioca, β -glucano da cevada e farinha de cladódios de cacto. Esses substratos promoveram o aumento da viabilidade de bactérias intestinais benéficas, a redução do pH e a produção de ácidos orgânicos, compostos que oferecem diversos benefícios, incluindo efeitos anti-inflamatórios, imunorreguladores, antiobesidade, antidiabetes, anticancerígenos, hepatoprotetores, cardiovasculares e neuroprotetores.

Com base nos resultados obtidos, observou-se que, embora o FOS seja amplamente utilizado como prebiótico convencional, a FFCV apresentou desempenho equivalente ou superior em diversos indicadores. Contudo, ressalta-se que as evidências apresentadas pela combinação entre FFCV e a cepa *Lmb. reuteri* derivam-se de modelos *in vitro* e do uso de uma cepa isolada. Portanto, recomenda-se que estudos futuros avaliem o efeito da FFCV por meio de modelos colônicos dinâmicos e de ensaios *in vivo*. Ainda assim, a coerência interna entre a composição química, a resistência à digestão gastrointestinal, a fermentabilidade e as respostas metabólicas fortalece o argumento de que a FFCV é um substrato promissor para formulações simbióticas, com potenciais aplicações em alimentos funcionais sustentáveis.

4. Conclusão

A FFCV apresentou um perfil nutricional e fitoquímico promissor, com composição rica em carboidratos, proteínas e compostos bioativos, atributos que fundamentam seu potencial como ingrediente funcional. Em fermentação colônica *in vitro*, tanto a FFCV nativa quanto sua fração não absorvível pós-digestão apresentaram escores positivos de atividade prebiótica frente ao *Lmb. reuteri*, evidenciando sua capacidade de estimular o crescimento da bactéria benéfica em detrimento do competidor entérico. A utilização desses substratos promoveu aumento do número de células viáveis, manutenção da viabilidade celular ao longo do tempo, acidificação controlada do meio e produção de ácidos orgânicos compatíveis com um perfil fermentativo favorável. Esses efeitos indicam o potencial da FFCV como substrato prebiótico, tanto em sua forma integral quanto após a digestão gastrointestinal, destacando sua aplicabilidade como ingrediente de origem vegetal para o desenvolvimento de alimentos com potencial de promoção da saúde intestinal..

Referências

- Abdi, R., & Joye, I. J. (2021). Prebiotic potential of cereal components. *Foods*, 10(10), 2338. <https://doi.org/10.3390/foods10102338>
- Abebe, B. K., & Alemayehu, M. T. (2022). A review of the nutritional use of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) for human and animal diets. *Journal of Agriculture and Food Research*, 10, 100383. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100383>

- Adebo, J. A. (2025). Chemical composition, antioxidant activity, functional, pasting, and thermal properties of selected bean flours. *Legume science*, 7(3), e70053.
- Ahmed, M. H., Vasas, D., Hassan, A., & Molnár, J. (2022). The impact of functional food in prevention of malnutrition. *PharmaNutrition*, 19, 100288. <https://doi.org/10.1016/j.phanu.2022.100288>
- AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International. In Association of Official Analysis Chemists International, 1997.
- AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International. In Association of Official Analysis Chemists International, 2016.
- Apea-Bah, F. B., Serem, J. C., Bester, M. J., Duodu, K. G., & Beta, T. (2021). Effect of simulated *in vitro* upper gut digestion of processed cowpea beans on phenolic composition, antioxidant properties and cellular protection. *Food Research International*, 150, 110750. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110750>
- Arribas, C., Pereira, E., Barros, L., Alves, M. J., Calhella, R. C., Guillamón, E., Pedrosa, M. M., & Ferreira, I. C. (2019). Healthy novel gluten-free formulations based on beans, carob fruit and rice: Extrusion effect on organic acids, tocopherols, phenolic compounds and bioactivity. *Food Chemistry*, 292, 304-313. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.04.074>
- Bangar, S. P., Suri, S., Trif, M., & Ozogul, F. (2022). Organic acids production from lactic acid bacteria: A preservation approach. *Food Bioscience*, 46, 101615. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101615>
- Bento, J. A. C., Ribeiro, P. R. V., Alexandre e Silva, L. M., Alves Filho, E. G., Bassinello, P. Z., de Brito, E. S., Calari, M., & Júnior, M. S. S. (2021). Chemical profile of colorful bean (*Phaseolus vulgaris* L) flours: Changes influenced by the cooking method. *Food Chemistry*, 356, 129718. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129718>
- Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). *Instrução Normativa nº 161, de 1º de julho de 2022. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos*. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 6 jul. 2022.

https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/IN_161_2022_.pdf/b08d70cb-add6-47e3-a5d3-fa317c2d54b2

- Calvete-Torre, I., Sabater, C., Antón, M. J., Moreno, F. J., Riestra, S., Margolles, A., & Ruiz, L. (2022). Prebiotic potential of apple pomace and pectins from different apple varieties: Modulatory effects on key target commensal microbial populations. *Food Hydrocolloids*, 133, 107958. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107958>
- Cheng, A., Hou, C., Sun, J., & Wan, F. (2020). Effect of steam explosion on phenolic compounds and antioxidant capacity in adzuki beans. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(12), 4495-4503. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10490>
- Da Silva, J. Y. P., do Nascimento, H. M. A., De Albuquerque, T. M. R., Sampaio, K. B., Lima, M. D. S., Monteiro, M., Leite, I. B., Da Silva, E. F., Do Nascimento, Y. M., Da Silva, M. S., Tavares, J. F., Alves, J. L. D. B., De Oliveira, M. E. G., & De Souza, E. L. (2024). Revealing the potential impacts of nutraceuticals formulated with freeze-dried jabuticaba peel and *Limosilactobacillus fermentum* strains candidates for probiotic use on human intestinal microbiota. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 16(5), 1773-1789. <https://doi.org/10.1007/s12602-023-10134-x>
- Da Silva, N., Junqueira, V. C. A., Silveira, N. F. D. A., Taniwaki, M. H., Gomes, R. A. R., Okazaki, M. M., & Iamanaka, B. T. (2017). *Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água*. 5. ed. São Paulo: Blucher, 561 p. ISBN 978-85-212-1226-3.
- De Albuquerque, T. M. R., Borges, C. W. P., Cavalcanti, M. T., Lima, M D. S., Magnani, M., & De Souza, E. L. (2020). Potential prebiotic properties of flours from different varieties of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) roots cultivated in Northeastern Brazil. *Food Bioscience*, 36, 100614. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100614>
- De Bock, P., Bockstaele, F. V., Raes, K., Vermeir, P., Van der Meeren, P., & Eeckhout, M. (2021). Impact of tempering process on yield and composition of quinoa flour. *LWT*, 140, 110808. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110808>

- Diblan, S., Kadiroglu, P., & Aydemir, L. Y. (2018). FT-IR spectroscopy characterization and chemometric evaluation of legumes extracted with different solvents. *Food and Health*, 4(2), 80-88. <http://jfhscscientificwebjournals.com/en/download/article-file/408344>
- Dong, R., Liu, S., Xie, J., Chen, Y., Zheng, Y., Zhang, X., Zhao, E., Wang, Z., Xu, H., & Yu, Q. (2021). The recovery, catabolism and potential bioactivity of polyphenols from carrot subjected to in vitro simulated digestion and colonic fermentation. *Food Research International*, 143, 110263. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110263>
- Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J., Scott, K., Stanton, C., Swanson, K. S., Cani, P. D., Verbeke, K., & Reid, G. (2017). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 14(8), 491-502. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.75>
- Gómez-García, R., Sánchez-Gutiérrez, M., Freitas-Costa, C., Vilas-Boas, A. A., Campos, D. A., Aguilar, C. N., Madureira, A. R., & Pintado, M. (2022). Prebiotic effect, bioactive compounds and antioxidant capacity of melon peel (*Cucumis melo* L. *inodorus*) flour subjected to in vitro gastrointestinal digestion and human faecal fermentation. *Food Research International*, 154, 111045. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111045>
- Gu, B. J., Masli, M. D. P., & Ganjyal, G. M. (2020). Whole faba bean flour exhibits unique expansion characteristics relative to the whole flours of lima, pinto, and red kidney beans during extrusion. *Journal of Food Science*, 85(2), 404-413. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14951>
- Guimarães, J. T., Balthazar, C. F., Silva, R., Rocha, R. S., Graça, J. S., Esmerino, E. A., Silva, M. C., Sant'Ana, A. S., Duarte, M. C. K. H., Freitas, M. Q., & Cruz, A. G. (2020). Impact of probiotics and prebiotics on food texture. *Current Opinion in Food Science*, 33, 38-44. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.12.002>
- Guldiken, B., Konieczny, D., Wang, N., Hou, A., House, J. D., Tu, K., Rosendahl, S., Lavier, M., & Nickerson, M. T. (2021). Effect of variety and environment on the

- physicochemical, functional, and nutritional properties of navy bean flours. *European Food Research and Technology*, 247(7), 1745-1756. <https://doi.org/10.1007/s00217-021-03745-7>
- Gunarathne, R., Marikkar, N., Yalegama, C., & Mendis, E. (2022). FTIR spectral analysis combined with chemometrics in evaluation of composite mixtures of coconut testa flour and wheat flour. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(3), 1796-1806. <https://doi.org/10.1007/s11694-022-01287-4>
- Higashijima, N. S., Lucca, A., Rebizz, L. R. H., & Rebizzi, L. M. H. (2020). Fatores antinutricionais na alimentação humana. *Segurança Alimentar e Nutricional*, 27, e020013-e020013. <http://dx.doi.org/10.20396/san.v27i0.8653587>
- Honaizer, T. C., Arcari, S. G., Fabiane, K. C., Rocha, M. D. M., Fedrigo, I. M. T., & Arisi, A. C. M. (2023). Synergism and phenolic bioaccessibility during *in vitro* co-digestion of cooked cowpea with orange juice. *International Journal of Food Science and Technology*, 58(8), 4476-4484. <https://doi.org/10.1111/ijfs.16144>
- Iacumin, L., & Comi, G. (2019). Microbial quality of raw and ready-to-eat mung bean sprouts produced in Italy. *Food Microbiology*, 82, 371-377. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.03.014>
- Isenring, J., Bircher, L., Geirnaert, A., & Lacroix, C. (2023). In vitro human gut microbiota fermentation models: opportunities, challenges, and pitfalls. *Microbiome Research Reports*, 2(1), 2. <https://doi.org/10.20517/mrr.2022.15>
- Jayamanohar, J., Devi, P. B., Kavitate, D., Priyadarisini, V. B., & Shetty, P. H. (2019). Prebiotic potential of water extractable polysaccharide from red kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *LWT*, 101, 703-710. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.11.089>
- Kadyan, S., Park, G., Wang, B., Singh, P., Arjmandi, B., & Nagpal, R. (2023). Resistant starches from dietary pulses modulate the gut metabolome in association with microbiome in a humanized murine model of ageing. *Scientific Reports*, 13(1), 10566. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-37036-w>

- Kadyan, S., Sharma, A., Arjmandi, B. H., Singh, P., & Nagpal, R. (2022). Prebiotic potential of dietary beans and pulses and their resistant starch for aging-associated gut and metabolic health. *Nutrients*, *14*(9), 1726. <https://doi.org/10.3390/nu14091726>
- Kenar, J. A., Felker, F. C., Singh, M., Byars, J. A., Berhow, M. A., Bowman, M. J., & Winkler-Moser, J. K. (2020). Comparison of composition and physical properties of soluble and insoluble navy bean flour components after jet-cooking, soaking, and cooking. *LWT*, *130*, 109765. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109765>
- Li, M., Bai, Q., Zhou, J., de Souza, T. S. P., & Suleria, H. A. R. (2022). In vitro gastrointestinal bioaccessibility, bioactivities and colonic fermentation of phenolic compounds in different *Vigna* Beans. *Foods*, *11*(23), 3884. <https://doi.org/10.3390/foods11233884>
- Liao, W., Li, W., Liu, S., Tang, D., Chen, Y., Wang, Y., Xie, Z., & Huang, J. (2022). Potential prebiotic effects of nonabsorptive components of Keemun and Dianhong black tea: An in vitro study. *Food Science and Human Wellness*, *11*(3), 648-659. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2021.12.022>
- Locali-Pereira, A. R., Kubo, M. T. K., Fuzetti, C. G., & Nicoletti, V. R. (2022). Functional properties of physically pretreated kidney bean and mung bean flours and their performance in microencapsulation of a carotenoid-rich oil. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, *6*, 845566. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2022.845566>
- Ma, S., Li, X., Tao, Q., Hu, Q., Yang, W., Kimatu, B. M., & Ma, G. (2024). The effect of in vitro digestion on the interaction between polysaccharides derived from *Pleurotus eryngii* and intestinal mucus. *Food Science & Nutrition*, *12*(2), 1318-1329. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3845>
- Mafaldo, Í. M., Araújo, L. M., Cabral, L., Barão, C. E., Noronha, M. F., Fink, J. R., De Albuquerque, T. M. R., Lima, M. D. S., Vidal, H., Pimentel, T. C., & Magnani, M. (2024). Cassava (*Manihot esculenta*) Brazilian cultivars have different chemical compositions, present prebiotic potential, and beneficial effects on the colonic microbiota of celiac individuals. *Food Research International*, *195*, 114909. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114909>

- Martins, A. C. S., Medeiros, G. K. V. D. V., De Oliveira, S. P. A., De Albuquerque, T. M. R., Sampaio, K. B., Lima, M. D. S., Do Nascimento, Y. M., Da Silva, E. F., Tavares, J. F., Da Silva, M. S., De Souza, E. L., & De Oliveira, M. E. G. (2023). Unrevealing the in vitro impacts of *Cereus jacamaru* DC. cladodes flour on potentially probiotic strains, selected bacterial populations, and metabolic activity of human intestinal microbiota. *Food Research International*, 174, 113658. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113658>
- Massa, N. M. L., De Oliveira, S. P. A., Rodrigues, N. P. A., Menezes, F. N. D. D., Lima, M. D. S., Magnani, M., & De Souza, E. L. (2022). In vitro colonic fermentation and potential prebiotic properties of pre-digested jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg) by-products. *Food Chemistry*, 388, 133003. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133003>
- Millar, K. A., Gallagher, E., Burke, R., McCarthy, S., & Barry-Ryan, C. (2019). Proximate composition and anti-nutritional factors of fava-bean (*Vicia faba*), green-pea and yellow-pea (*Pisum sativum*) flour. *Journal of Food Composition and Analysis*, 82, 103233. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.103233>
- Moumita, S., & Das, B. (2022). Assessment of the prebiotic potential and bioactive components of common edible mushrooms in India and formulation of synbiotic microcapsules. *LWT*, 156, 113050. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.113050>
- Moussaoui, D., Chaya, C., Badia-Olmos, C., Rizo, A., & Tárrega, A. (2024). Effect of pH and calcium on the techno functional properties of different pulse flours, pastes, and gels. *Food and Bioprocess Technology*, 17(8), 2292-2303. <https://doi.org/10.1007/s11947-023-03264-1>
- Muhammad, M., Zhu, Y., Wen, A., Liu, N., & Qin, L. (2022). Phenolic profile, alpha-amylase inhibitory activity, and in vitro glycemic index of adzuki beans. *Frontiers in Nutrition*, 9, 1063602. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1063602>
- Ogbole, O. O., Akin-Ajani, O. D., Ajala, T. O., Ogunniyi, Q. A., Fettke, J., & Odeku, O. A. (2023). Nutritional and pharmacological potentials of orphan legumes: Subfamily faboideae. *Heliyon*, 9(4). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e15493>

- Ozkan, G., Sakarya, F. B., Tas, D., Yurt, B., Ercisli, S., & Capanoglu, E. (2023). Effect of *in vitro* digestion on the phenolic content of herbs collected from Eastern Anatolia. *ACS omega*, 8(14), 12730-12738. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c07881>
- Petersen, K., & Mansell, T. J. (2025). Unveiling the prebiotic potential of polyphenols in gut health and metabolism. *Current Opinion in Biotechnology*, 95, 103338. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2025.103338>
- Qin, Y., Wang, L., Liu, Y., Zhang, Q., Li, Y., & Wu, Z. (2018). Release of phenolics compounds from *Rubus idaeus* L. dried fruits and seeds during simulated *in vitro* digestion and their bio-activities. *Journal of Functional Foods*, 46, 57-65. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.04.046>
- Raisagar, A., & Shukla, S. (2022). Evaluation of probiotic potential of selected lab cultures. *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology and Environmental Sciences*, 24(2), 269-274. <http://doi.org/10.53550/AJMBES.2022.v24i02.010>
- Resende, L. M., Oliveira, L. S., & Franca, A. S. (2020). Characterization of jabuticaba (*Plinia cauliflora*) peel flours and prediction of compounds by FTIR analysis. *LWT*, 133, 110135. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110135>
- Ribeiro, T. B., Costa, C. M., Bonifácio-Lopes, T., Silva, S., Veiga, M., Monforte, A. R., Nunes, J., Vicente, A. A., & Pintado, M. (2021). Prebiotic effects of olive pomace powders in the gut: In vitro evaluation of the inhibition of adhesion of pathogens, prebiotic and antioxidant effects. *Food Hydrocolloids*, 112, 106312. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106312>
- Sancho, R. A. S., Pavan, V., & Pastore, G. M. (2015). Effect of *in vitro* digestion on bioactive compounds and antioxidant activity of common bean seed coats. *Food Research International*, 76, 74-78. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.11.042>
- Santos, I. A., Conceição, D. G., Viana, M. B., de Jesus Silva, G., Santos, L. S., & Ferrão, S. P. B. (2021). NIR and MIR spectroscopy for quick detection of the adulteration of cocoa content in chocolates. *Food Chemistry*, 349, 129095. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129095>

- Saviano, A., Brigida, M., Migneco, A., Gunawardena, G., Zanza, C., Candelli, M., Franceschi, F., & Ojetti, V. (2021). *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 (*Limosilactobacillus reuteri*) in diarrhea and constipation: two sides of the same coin?. *Medicina*, 57(7), 643. <https://doi.org/10.3390/medicina57070643>
- Sawangwan, T., Kajadman, D., & Kulchananimit, R. (2024). Determination of prebiotic properties of rice bran extract. *Bioscience of Microbiota, Food and Health*, 43(3), 222-226. <https://doi.org/10.12938/bmfh.2023-090>
- Silva, D. J., & Queiroz, A. C. *Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos*. UFV, 2002.
- Silva, G. S., Moreira, F. I. N., De Albuquerque, T. M. R., Abreu, T. L., De Souza, E. G. T., Da Silva, L. R., Marques, A. D. J. D. F., Galvão, M. D. S., Lima, M. D. S., De Souza, E. L., Madruga, M. S., Kurozawa, L. E., & Bezerra, T. K. A. (2025). Microencapsulated phenolic compounds from organic coffee husk: Impacts on human gut microbiota and *in vitro* prebiotic potential. *Food Research International*, 201, 115597. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.115597>
- Singh, V., Son, H., Lee, G., Lee, S., Unno, T., & Shin, J. H. (2022). Role, relevance, and possibilities of *in vitro* fermentation models in human dietary, and gut-microbial studies. *Biotechnology and bioengineering*, 119(11), 3044-3061. <https://doi.org/10.1002/bit.28206>
- Tas, O., Ertugrul, U., Grunin, L., & Oztop, M. H. (2022). An investigation of functional quality characteristics and water interactions of navy bean, chickpea, pea, and lentil flours. *Legume Science*, 4(1), e136. <https://doi.org/10.1002/leg3.136>
- Tavares, R. M. D. O., De Assis, C. F., Lima, P. D. O., De Lima, P. D. S., Lima, R. R. C., & Damasceno, K. S. F. D. S. C. (2022). Blanching effect on the quality and shelf-life characteristics of fresh cowpea grains [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. *Foods*, 11(9), 1295. <https://doi.org/10.3390/foods11091295>
- Utami, M. M. D., Dewi, A. C., & Ningsih, N. (2022). Potential of tamarind seeds (*Tamarindus indica* L.) as prebiotics on the growth of lactic acid bacteria. In *IOP*

Conference Series: Earth and Environmental Science. IOP Publishing, vol. 980, No. 1, p. 012017. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/980/1/012017>

- Wani, I. A., Andrabi, S. N., Sogi, D. S., & Hassan, I. (2020). Comparative study of physicochemical and functional properties of flours from kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and green gram (*Vigna radiata* L.) cultivars grown in Indian temperate climate. *Legume Science*, 2(1), e11. <https://doi.org/10.1002/leg3.11>
- Wojtunik-Kulesza, K., Oniszczyk, A., Oniszczyk, T., Combrzyński, M., Nowakowska, D., & Matwijczuk, A. (2020). Influence of in vitro digestion on composition, bioaccessibility and antioxidant activity of food polyphenols—A non-systematic review. *Nutrients*, 12(5), 1401. <https://doi.org/10.3390/nu12051401>
- Yu, W., Wang, J., Xiong, Y., Liu, J., Baranenko, D., Zhang, Y., & Lu, W. (2024). In vivo absorption, in vitro simulated digestion, and fecal fermentation properties of Imperata cylindrica polysaccharides and their effects on gut microbiota. *Food chemistry*, 461, 140773. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.140773>
- Yuan, C., Hu, R., He, L., Hu, J., & Liu, H. (2023). Extraction and prebiotic potential of β -glucan from highland barley and its application in probiotic microcapsules. *Food Hydrocolloids*, 139, 108520. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108520>
- Zhang, B., Deng, Z., Tang, Y., Chen, P. X., Liu, R., Ramdath, D. D., Liu, Q., Hernandez, M., & Tsao, R. (2017). Bioaccessibility, in vitro antioxidant and anti-inflammatory activities of phenolics in cooked green lentil (*Lens culinaris*). *Journal of Functional Foods*, 32, 248-255. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.03.004>

Material Suplementar

Tabela S1. Composição do caldo Man-Rogosa-Sharpe (MRS) com fonte de carbono modificada.

Composição	Quantidade (g/L)
Digestão enzimática de tecido animal (HiMedia, Índia)	10
Extrato de carne bovina (Kasvi, Brasil)	10
Extrato de levedura (Kasvi, Brasil)	5
Acetato de sódio (Biotec Reagentes, Brasil)	5
Polisorbato 80 (Labsynth Produtos para Laboratórios Ltda., Brasil)	1
Fosfato de potássio (Anidrol Produtos para Laboratório Ltda., Brasil)	2
Citrato de amônio (Labsynth Produtos para Laboratórios Ltda., Brasil)	2
Sulfato de magnésio (Anidrol Produtos para Laboratório Ltda., Brasil)	0,01
Sulfato de manganês (Anidrol Produtos para Laboratório Ltda., Brasil)	0,05
Fonte de carbono (glicose, FOS, FFCV ou FFCVD)	20

FOS: frutooligossacarídeos; FFCV: farinha de feijão-de-corda verde; FFCVD: farinha de feijão-de-corda verde digerida.

Tabela S2. Composição do caldo Mueller-Hinton (MH) com fonte de carbono modificada.

Composição	Quantidade (g/L)
Hidrolisado ácido de caseína (HiMedia, Índia)	17,5
Extrato de carne bovina (Kasvi, Brasil)	2
Fonte de carbono (glicose, FOS, FFCV ou FFCVD)	20

FOS: frutooligossacarídeos; FFCV: farinha de feijão-de-corda verde; FFCVD: farinha de feijão-de-corda verde digerida.

CAPÍTULO IV

Artigo II

Estudo da eficácia da farinha de feijão-de-corda verde como em combinação com maltodextrina e pectina como material de revestimento para encapsulamento de *Limosilactobacillus reuteri*: propriedades físicas, químicas e avaliação da viabilidade e resistência probiótica

Resumo

A incorporação de probióticos em alimentos apresenta desafios relacionados à manutenção da viabilidade celular durante o processamento, armazenamento e a digestão gastrointestinal. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da farinha de feijão-de-corda verde (FFCV), em combinação com maltodextrina e pectina, na microencapsulação de *Limosilactobacillus reuteri* por secagem por atomização. Foram produzidas diferentes formulações, com variações nas proporções de FFCV e de maltodextrina. As soluções encapsulantes foram avaliadas quanto às propriedades reológicas e as microcápsulas foram caracterizadas quanto à eficiência de encapsulamento, morfologia, propriedades físico-químicas, estabilidade térmica e capacidade de proteção celular sob condições gastrointestinais *in vitro*. As microcápsulas apresentaram morfologia predominantemente esférica, com superfície íntegra e ausência de fissuras, além de propriedades físico-químicas compatíveis com a obtenção de pós encapsulados. A incorporação da FFCV promoveu alterações significativas ($p \leq 0,05$) na atividade de água, no teor de umidade, na solubilidade e nos parâmetros de cor, evidenciando a influência da composição da matriz sobre as propriedades dos sistemas obtidos. As formulações com maior proporção de FFCV (MT4 e MT6) apresentaram maior eficiência de encapsulamento e melhor desempenho na proteção celular. Durante a digestão gastrointestinal *in vitro*, essas formulações mantiveram viabilidade superior a $6 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g}$ na fase final, enquanto as células livres apresentaram redução acentuada da viabilidade. Os resultados indicam que a incorporação de FFCV às matrizes contendo maltodextrina e pectina pode favorecer a eficiência de encapsulamento e a proteção de *Lmb. reuteri* sob condições adversas, demonstrando seu potencial para aplicação no desenvolvimento de sistemas de entrega de probióticos destinados a alimentos funcionais.

Palavras-chave: Microcápsulas; Atomização; Produtos vegetais; Digestão *in vitro*.

1. Introdução

Os probióticos são definidos como microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro, destacando-se pelos seus efeitos sobre a microbiota intestinal e o sistema imunológico (Latif et al., 2023). Para que esses efeitos sejam alcançados, é necessário que os microrganismos sejam mantidos viáveis em níveis superiores a 6 Log UFC/g ou mL até o momento do consumo (Liu et al., 2023).

No entanto, a aplicação de probióticos em sistemas alimentares apresenta desafios, uma vez que fatores como processamento térmico, exposição ao oxigênio, umidade, estresse osmótico, condições de armazenamento e, especialmente, a passagem pelo trato gastrointestinal podem comprometer a viabilidade e atividade metabólica desses microrganismos (Gao et al., 2022).

Para contornar essas limitações, a microencapsulação de células probióticas tem sido empregada como estratégia para aumentar a estabilidade dos probióticos, protegendo-os contra condições adversas e possibilitando sua liberação controlada no intestino. Essa técnica consiste no recobrimento das células com uma matriz polimérica, formando cápsulas em escala milimétrica, micrométrica ou nanométrica capazes de atuar como barreira física e funcional frente a agentes degradantes (Costa et al., 2025; Santos et al., 2025; Ni et al., 2023; Gu et al., 2022; Reque & Brandelli, 2021; Rodrigues et al., 2020).

Dentre os métodos de microencapsulação, a secagem por atomização destaca-se como uma das técnicas mais utilizadas na indústria de alimentos, devido à sua simplicidade operacional, escalabilidade, baixo custo e capacidade de produzir pós estáveis, com elevada eficiência de encapsulamento. Nesse processo, a suspensão contendo os microrganismos e os agentes encapsulantes é atomizada em uma corrente de ar quente, promovendo a rápida evaporação da água e a formação de partículas secas (Berenice et al., 2026; Pudžiuvėlytė et al., 2025).

A escolha dos materiais de revestimento é uma etapa crítica para a eficiência do encapsulamento e a estabilidade das microcápsulas (Rajam & Subramanian, 2022). A maltodextrina é o material mais utilizado devido à sua elevada solubilidade, baixa viscosidade e capacidade de formar filmes, o que contribui para a formação de partículas com boa estabilidade e alta dispersibilidade (Xiao et al., 2022). Por outro lado, a pectina, um polissacarídeo aniônico, apresenta propriedades gelificantes e capacidade de interação com outros biopolímeros, podendo reforçar a estrutura da matriz encapsulante e melhorar a proteção dos microrganismos (Huang et al., 2021).

Apesar da grande variedade de polímeros naturais e sintéticos disponíveis, há crescente interesse na incorporação de matérias-primas vegetais como componentes da matriz encapsulante, visando não apenas melhorar as propriedades tecnológicas das microcápsulas, mas também agregar valor funcional por meio de compostos com potencial prebiótico. Essa abordagem está alinhada às tendências de desenvolvimento de alimentos com “rótulo limpo” e ao aproveitamento de recursos agroindustriais sustentáveis (Costa et al., 2025; Santos et al., 2025; Kamble et al., 2024; Agriopoulou et al., 2023; Costa et al., 2023; How & Piu, 2021; Samborska et al., 2021). Além disso, o sistema simbiótico frequentemente formado exerce efeitos mais potentes sobre a saúde do que os probióticos e prebióticos usados isoladamente, evidenciando efeitos sinérgicos (Gu et al., 2022).

Entre os materiais promissores, a farinha do feijão-de-corda (*Vigna unguiculata*) destaca-se por seu elevado valor nutricional e por suas propriedades tecnológicas. Trata-se de uma leguminosa rica em fibras alimentares, amido resistente, proteínas e compostos bioativos, além de apresentar potencial para formação de matrizes estruturadas, devido à sua capacidade de gelificação (Sardar et al., 2024; Li et al., 2021). Adicionalmente, sua maior adaptabilidade a solos pobres e climas secos, aliada a menores exigências de insumos agrícolas, confere-lhe vantagens econômicas, agronômicas e ambientais relevantes (Shevkani et al., 2025; Herniter et al., 2020).

Tais atributos conferem à farinha de feijão-de-corda potencial para atuar simultaneamente como componente estrutural da matriz encapsulante e como fonte de compostos com atividade prebiótica, o que favorece a formação de sistemas simbióticos. No entanto, ainda são limitados os estudos que investigam sua aplicação em sistemas de microencapsulação por secagem por atomização. Nesse contexto, objetivou-se avaliar o efeito da incorporação da farinha de feijão-de-corda verde (FFCV) em combinação com maltodextrina e pectina na microencapsulação de *Limosilactobacillus reuteri* (*Lmb. reuteri*) por secagem por atomização, investigando as propriedades físico-químicas, estruturais e funcionais das microcápsulas, bem como a viabilidade celular em diferentes condições de armazenamento e durante a digestão gastrointestinal *in vitro*

2. Metodologia

2.1. Cultivo de *Lmb. reuteri*

A cultura probiótica de *Lmb. reuteri* DSM 17938 foi obtida a partir do suplemento alimentar comercial ProVance (Aché, Brasil) e reativada conforme metodologia descrita por Santos et al. (2025), com adaptações. Para isso, um sachê (1×10^8 UFC/360 mg) foi dissolvido em 100 mL de caldo Man-Rogosa-Sharpe (MRS) (Neogen Culture Media, Estados Unidos) e incubado em estufa do tipo BOD (CE-300/350, Cienlab Equipamentos Científicos Ltda., Campinas, SP, Brasil) a 37 °C por 24 h.

Após o período de incubação, as células foram coletadas por centrifugação (CT-6000R, Cientec Equipamentos Científicos Ltda., Belo Horizonte, MG, Brasil) a 4500 g por 15 min a 4 °C. O sobrenadante foi descartado e o pellet foi ressuspensão duas vezes em solução

salina estéril (NaCl) a 0,9 % (m/v) (Vetec Química Fina Ltda., Duque de Caxias, RJ, Brasil) e, em seguida, novamente centrifugado nas mesmas condições.

Ao final, o pellet foi armazenado em tubos de centrífuga estéreis e mantido sob refrigeração a 4 °C até ser utilizado. A concentração celular foi determinada por meio de diluições seriadas, plaqueamento em triplicata com a técnica de microgotas em ágar MRS, seguido de incubação a 37 °C por 48 h. Após o período de incubação, realizou-se a contagem das unidades formadoras de colônias (UFC) e a concentração celular final foi de aproximadamente 11 Log₁₀ UFC/g.

2.2. Desenvolvimento das microcápsulas de *Lmb. reuteri*

Para o desenvolvimento das microcápsulas de *Lmb. reuteri*, foram utilizados como materiais de revestimento maltodextrina (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, Estados Unidos), pectina (ACS Científica Química Fina Especializada Ltda., Sumaré, SP, Brasil) e FFCV.

A FFCV foi produzida conforme metodologia descrita por Bento et al. (2021). O feijão-de-corda, no estágio de maturação verde, foi adquirido de produtor da região de Itapetinga, Bahia, Brasil (15° 14' 40" Sul 40° 16' 38" Oeste). Os grãos foram secos em estufa com circulação de ar (320-SE, Fanem Ltda., Guarulhos, SP, Brasil) a 60 °C até atingir teor de umidade < 10 %. Após a secagem, foram moídos em moinho de facas (Willey SL-31, Solab Científica, Campinas, SP, Brasil), com granulometria de 2 mm até obter um pó fino. A farinha foi armazenada em sacos de polietileno e mantida em local seco e fresco até o momento do uso.

A seleção desses materiais baseou-se em critérios como custo, disponibilidade e potencial funcional, com ênfase na incorporação de biopolímeros de origem vegetal como alternativa inovadora para sistemas de encapsulamento.

2.2.1. Formulações e preparação das soluções encapsulantes

A definição das formulações e o preparo das soluções encapsulantes foram realizados com base nos estudos de Santos et al. (2025), Kamble et al. (2024) e Costa et al. (2023), com adaptações.

Os tratamentos experimentais e suas respectivas composições são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Formulações das soluções encapsulantes utilizadas no microencapsulamento de *Lmb. reuteri*.

Tratamento	Maltodextrina (%)	Pectina (%)	FFCV (%)	Concentração total (%)
T0	15	1	0	16
T2	13	1	2	16
T4	11	1	4	16
T6	9	1	6	16

FFCV: farinha de feijão-de-corda verde.

Para o preparo das soluções encapsulantes, os materiais de revestimento foram dissolvidos em água destilada e homogeneizados em agitador tipo shaker (SL-222/E, Solab Científica, Piracicaba, SP, Brasil) a 300 rpm por 1 h. Em seguida, as soluções foram filtradas em tecido de poliéster e esterilizadas a 121 °C por 15 min.

Após o resfriamento à temperatura ambiente, a suspensão de células de *Lmb. reuteri* foi adicionada a cada solução de encapsulamento na proporção de 4 % em relação à massa dos materiais de revestimento (m/m). Posteriormente, as soluções foram homogeneizadas em incubadora shaker a 300 rpm por 10 min a 25 °C, a fim de garantir a distribuição homogênea das células.

2.2.2. Produção das microcápsulas de *Lmb. reuteri* por secagem por atomização

As microcápsulas foram produzidas por meio do método de secagem por atomização, utilizando um secador atomizador (MSD 3.0, LabMaq, Ribeirão Preto, SP, Brasil) operado em regime de fluxo de ar concorrente e equipado com bico de diâmetro interno de 1 mm, conforme a metodologia descrita por Santos et al. (2025) e Costa et al. (2023), com adaptações. Os parâmetros operacionais adotados foram: temperatura de entrada do ar de secagem de 125 °C, vazão de alimentação de 0,7 L/h, vazão de ar de secagem de 3,5 m³/min e temperatura de saída de 70 °C. Após o processo de secagem, as microcápsulas probióticas foram armazenadas em frascos estéreis a 4 °C até a realização das análises subsequentes.

2.3. Propriedades reológicas das soluções encapsulantes

As propriedades viscoelásticas das soluções encapsulantes foram avaliadas por meio de ensaios oscilatórios dinâmicos de pequena deformação, utilizando um reômetro (HR-20, TA Instruments Discovery, New Castle, DE, Estados Unidos), equipado com sistema de controle de temperatura do tipo Solid State. Foi empregada a geometria de placas paralelas,

com diâmetro de 50 mm e folga de 0,104 mm, conforme a metodologia descrita por Hughes et al. (2024), com adaptações.

Inicialmente, foram realizados ensaios em regime de cisalhamento controlado, com variação da taxa de deformação entre 0,01 e 1000 s⁻¹, visando à caracterização do comportamento de escoamento das amostras. Em seguida, foram conduzidos ensaios oscilatórios, nos quais os módulos de armazenamento (G') e de perda (G'') e a viscosidade complexa (η^*) foram determinados por meio de uma varredura de frequência de 0,1 a 100 rad/s, sob deformação constante de 0,1 %. Esse valor foi previamente estabelecido na região viscoelástica linear (LVR). Todas as análises foram realizadas a 20 °C.

2.4. Eficiência do encapsulamento de *Lmb. reuteri*

A eficiência do encapsulamento de *Lmb. reuteri* foi determinada com base na razão entre a concentração de células viáveis presentes nas microcápsulas e a concentração inicial de células na solução de alimentação, conforme apresentado na Equação 1:

$$\text{Eficiência} = (N / N_0) \times 100 \quad (1)$$

Onde: N = concentração de células viáveis (Log₁₀ UFC/g) nas microcápsulas e N₀ = concentração de células viáveis (Log₁₀ UFC/g) na solução de alimentação antes do processo de encapsulamento.

Para a determinação das contagens de células viáveis, 1 g de amostra (solução de alimentação ou microcápsulas) foi diluída em 9 mL de solução salina estéril a 0,9 % (m/v). Em seguida, foram realizadas diluições seriadas, plaqueamento em triplicata com a técnica de microgotas em ágar MRS e incubação a 37 °C por 48 h. Após o período de incubação, procedeu-se à contagem de células viáveis e os resultados foram expressos em Log₁₀ UFC/g de solução de alimentação antes do encapsulamento e Log₁₀ UFC/g de microcápsulas (Kamble et al., 2024).

2.5. Caracterização das microcápsulas de *Lmb. reuteri*

2.5.1. Aspectos morfológicos

A morfologia das microcápsulas foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (MEV), conforme metodologia descrita por Kamble et al. (2024), com adaptações.

Inicialmente, as amostras foram fixadas em fita de carbono dupla face eletrocondutora e submetidas à metalização com ouro pelo sistema Desk V (Delton Vacuum LLC, Moorestown, NJ, Estados Unidos). Posteriormente, foram analisadas em microscópio eletrônico de varredura (JSM-6610, JEOL, Tóquio, Japão), operando com tensão de aceleração de 15 kV. As imagens foram obtidas com ampliações de 1500x e 8500x.

2.5.2. Propriedades físicas e químicas

A atividade de água (A_w) das microcápsulas foi determinada com o medidor de atividade de água de bancada AquaLab (Series 3TE, Decagon Devices, Pullman, WA, Estados Unidos) a 25 °C e o teor de umidade foi determinado gravimetricamente, conforme descrito por Costa et al. (2023).

A solubilidade das microcápsulas foi determinada conforme a metodologia descrita por Costa et al. (2025). Para tanto, 1 g de amostra foi transferido para um tubo de centrífuga (50 mL), contendo 20 mL de água destilada, e homogeneizado até a completa dispersão. Posteriormente, a suspensão foi centrifugada (CT-6000R, Cientec Equipamentos Científicos Ltda., Belo Horizonte, MG, Brasil) a 2800 g por 5 min. O sobrenadante foi transferido para um cadinho previamente seco e pesado, seguido de secagem em estufa com circulação de ar (320-SE, Fanem Ltda., Guarulhos, SP, Brasil) a 105 °C, até atingir massa constante. A solubilidade foi calculada pela diferença de peso e os resultados foram expressos em porcentagem.

2.5.3. Cor instrumental

A avaliação instrumental da cor das microcápsulas foi realizada com um colorímetro portátil (NH300, Shenzhen Linshang Technology Co., Ltd., China), conforme a metodologia descrita por Kamble et al. (2024), com adaptações.

Foram determinadas as coordenadas colorimétricas do sistema CIELAB: L^* (luminosidade), variando de 0 (preto) a 100 (branco); a^* (eixo verde-vermelho), com valores negativos indicando tendência ao verde e positivos ao vermelho; b^* (eixo azul-amarelo), com valores negativos indicando tendência ao azul e positivos ao amarelo. A partir dessas coordenadas, foram calculados o ângulo de matiz (h°), que representa a tonalidade da cor (0° = vermelho, 90° = amarelo, 180° = verde e 270° = azul) e o croma (C^*), que mede a

intensidade e a saturação da cor. Os parâmetros h° e C^* foram calculados com base nas Equações 2 e 3.

$$h^\circ = \tan^{-1} (b^* / a^*) \quad (2)$$

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (3)$$

Onde a^* e b^* correspondem às coordenadas cromáticas do sistema CIELAB.

2.5.4. Análise espectroscópica

Os grupos funcionais e as diferenças estruturais dos materiais de parede, das soluções encapsulantes e das microcápsulas foram analisados por espectroscopia no infravermelho médio com transformada de Fourier e reflexão total atenuada (FTIR-ATR). As análises foram realizadas em espectrômetro (Cary 630, Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, Estados Unidos), na faixa espectral de 4000 a 600 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e varredura de 64 scans, conforme metodologia descrita por Onelli et al. (2026), com adaptações. Para cada análise, aproximadamente 0,1 g de amostra foi depositada sobre o cristal de diamante do acessório ATR, garantindo contato adequado com a superfície do cristal. Antes de cada coleta o espectro de fundo branco foi verificado. Os espectros foram obtidos no modo de absorbância e, durante as análises, a temperatura ambiente foi mantida em 25 °C. O software utilizado para a aquisição dos espectros foi o Agilent MicroLab PC, e as máximas absorbâncias associadas às faixas de número de onda foram utilizadas como variáveis de estudo.

2.5.5. Propriedades térmicas

As propriedades térmicas dos materiais de revestimento e das microcápsulas foram avaliadas por calorimetria diferencial de varredura (DSC) (DSC250, TA Instruments, New Castle, DE, Estados Unidos), operada pelo software TRIOS v5.8.1.14 (TA Instruments, New Castle, DE, Estados Unidos), conforme metodologia descrita por Yeung et al. (2024), com adaptações. Aproximadamente 5 mg das amostras foram acondicionadas em cápsulas de alumínio seladas e submetidas a aquecimento a uma taxa de 10 °C/min, com varredura de 25 a 250 °C e fluxo de nitrogênio de 50 mL/min como gás de purga. As curvas foram analisadas no software do equipamento, determinando-se o parâmetro de temperatura de pico.

2.6. Viabilidade de *Lmb. reuteri* livre e microencapsulado durante digestão gastrointestinal *in vitro*

As microcápsulas foram submetidas à digestão gastrointestinal *in vitro*, seguindo a metodologia de Costa et al. (2025), Santos et al. (2025) e Kamble et al. (2024), com adaptações, para simular as fases gástrica, entérica I e entérica II.

O fluido gástrico simulado (FGS) foi preparado dissolvendo 3 g de pepsina (P7012) (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, Estados Unidos) em 1 L de solução salina estéril a 0,9 % (m/v), ajustada ao pH 2,0-2,5 com HCl 1 mol/L (Ecibra, São Paulo, SP, Brasil). Em 18 mL de FGS, foram adicionadas 2 g de amostras (células livres ou microcápsulas) e incubadas a 37 °C por 120 min, a 100 rpm.

Na fase entérica I, o pH da solução foi ajustado para 5,4-5,7, utilizando solução alcalina (pH 12, NaOH 1 mol/L e KH₂PO₄), contendo também bile bovina (B3883) (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, Estados Unidos) e pancreatina (P7545) (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, Estados Unidos), nas concentrações de 10 g/L e 1 g/L, respectivamente. As amostras foram novamente incubadas a 37 °C por 120 min a 100 rpm.

Na fase entérica II, o pH do sistema foi elevado para 6,8-7,2 com a mesma solução alcalina, mantendo-se a concentração de bile bovina e de pancreatina. As amostras foram então incubadas a 37 °C por mais 120 min, a 100 rpm, totalizando 360 min (6 h) de teste. A contagem das células viáveis após cada fase da simulação gastrointestinal foi conduzida conforme descrito no item 2.4, e os resultados foram expressos em Log₁₀ UFC/g.

2.7. Análise estatística

Os experimentos foram conduzidos em três repetições, com análises realizadas em triplicata para cada condição experimental. Os dados obtidos foram analisados por meio de análise de variância (ANOVA) e, para os resultados significativos, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a um nível de significância de 95 % ($p < 0,05$). Os cálculos estatísticos foram realizados no software *Statistical Analysis System* (SAS).

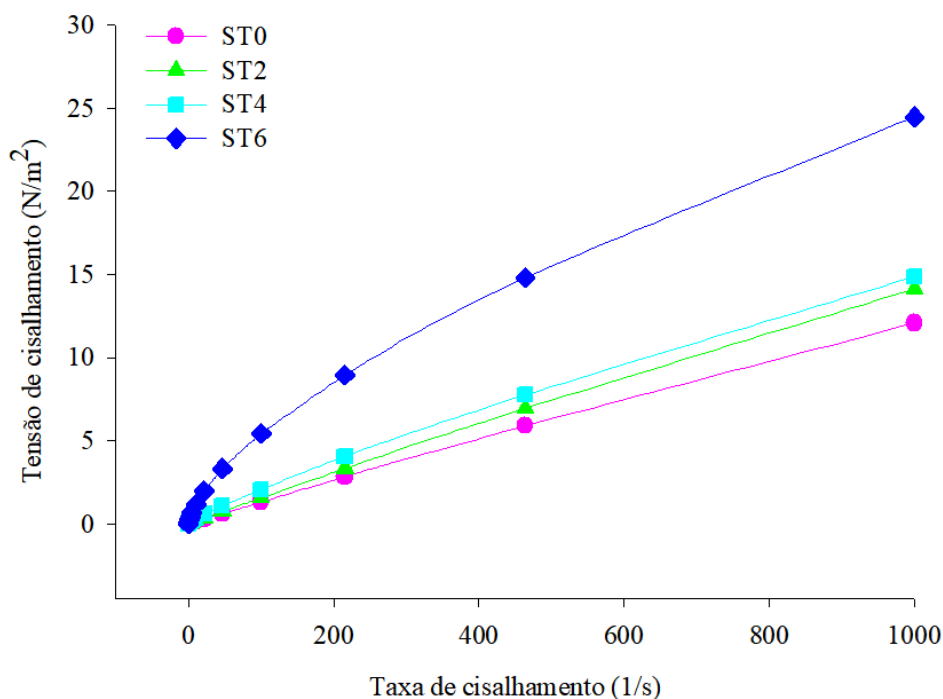
3. Resultados

3.1. Propriedades reológicas das soluções encapsulantes

As propriedades reológicas das soluções de encapsulamento são determinantes para o desempenho do processo de secagem por atomização, pois influenciam o escoamento da alimentação, a atomização e, conseqüentemente, a formação das partículas durante a secagem (Porfirio et al., 2021). Neste estudo, foram avaliadas as curvas de fluxo, a viscosidade complexa em função da frequência angular e os módulos viscoelásticos de armazenamento (G') e de perda (G'') das diferentes formulações.

A Figura 1 apresenta as curvas de fluxo das soluções encapsulantes, expressas pela relação entre a tensão de cisalhamento e a taxa de cisalhamento.

Figura 1. Curvas de fluxo das soluções encapsulantes utilizadas no encapsulamento de *Lmb. reuteri*.



ST0: solução encapsulante T0; ST2: solução encapsulante T2; ST4: solução encapsulante T4; ST6: solução encapsulante T6. T0: 15 % de maltodextrina e 1 % de pectina; T2: 13 % de maltodextrina, 1 % de pectina e 2 % de FFCV; T4: 11 % de maltodextrina, 1 % de pectina e 4 % de FFCV; T6: 9 % de maltodextrina, 1 % de pectina e 6 % de FFCV. FFCV: farinha de feijão-de-corda verde.

Os ensaios em estado estacionário evidenciaram comportamento não newtoniano em todas as formulações, caracterizado por uma relação não linear da tensão de cisalhamento e a taxa de cisalhamento à medida que esta aumentava. De acordo com Hernández-Gallegos et al.

(2023), para encapsular com sucesso microrganismos, o material de parede selecionado deve apresentar propriedades não newtonianas. Assim, os resultados obtidos indicam que as soluções encapsulantes atendem a esse requisito.

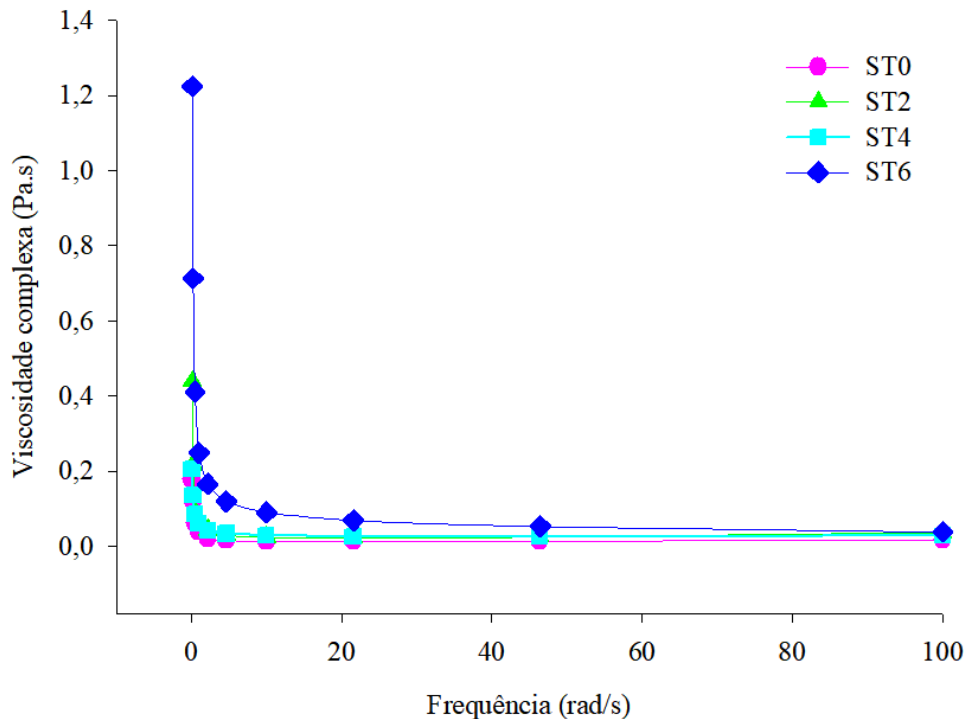
A redução das curvas com o aumento da taxa de cisalhamento, pode estar associada ao alinhamento e à orientação das cadeias poliméricas na direção do escoamento, bem como à redução de interações intermoleculares e estruturais presentes em condições de menor cisalhamento. Esses fenômenos promovem menor resistência ao fluxo sob elevadas taxas de deformação, facilitando o escoamento da solução durante o processamento. Esse comportamento é frequentemente observado em sistemas constituídos por biopolímeros, como polissacarídeos e proteínas, amplamente empregados como materiais de revestimento em processos de encapsulamento (Porfirio et al., 2021).

Adicionalmente, observou-se que a composição das formulações exerceu influência evidente sobre o comportamento reológico. O aumento da concentração de FFCV foi associado a valores mais elevados de tensão de cisalhamento ao longo de toda a faixa de taxas de cisalhamento analisada. A formulação ST6, portanto, apresentou maior resistência ao escoamento, enquanto ST0 exibiu os menores valores de tensão de cisalhamento. Esse comportamento pode estar relacionado ao aumento do teor de sólidos e à maior concentração de componentes capazes de estabelecer interações intermoleculares, o que eleva a resistência ao fluxo da matriz. Resultados semelhantes foram relatados por Costa et al. (2020), que observaram maior tensão de cisalhamento na sobremesa simbiótica composta por inhame, polpa de manga e *L. plantarum*, com a adição de fibras, e associaram esse efeito ao maior conteúdo de sólidos da formulação.

A Figura 2 apresenta a viscosidade complexa das soluções encapsulantes em função da frequência angular.

Observou-se uma redução acentuada da viscosidade complexa com o aumento da frequência em todas as formulações, seguida de uma tendência à estabilização em valores relativamente baixos nas frequências mais elevadas. Esse comportamento evidencia a dependência da resposta viscosa em relação à frequência aplicada e indica menor resistência ao escoamento sob condições de maior frequência de deformação.

Figura 2. Viscosidade complexa das soluções encapsulantes utilizadas no encapsulamento de *Lmb. reuteri*.



ST0: solução encapsulante T0; ST2: solução encapsulante T2; ST4: solução encapsulante T4; ST6: solução encapsulante T6. T0: 15 % de maltodextrina e 1 % de pectina; T2: 13 % de maltodextrina, 1 % de pectina e 2 % de FFCV; T4: 11 % de maltodextrina, 1 % de pectina e 4 % de FFCV; T6: 9 % de maltodextrina, 1 % de pectina e 6 % de FFCV. FFCV: farinha de feijão-de-corda verde.

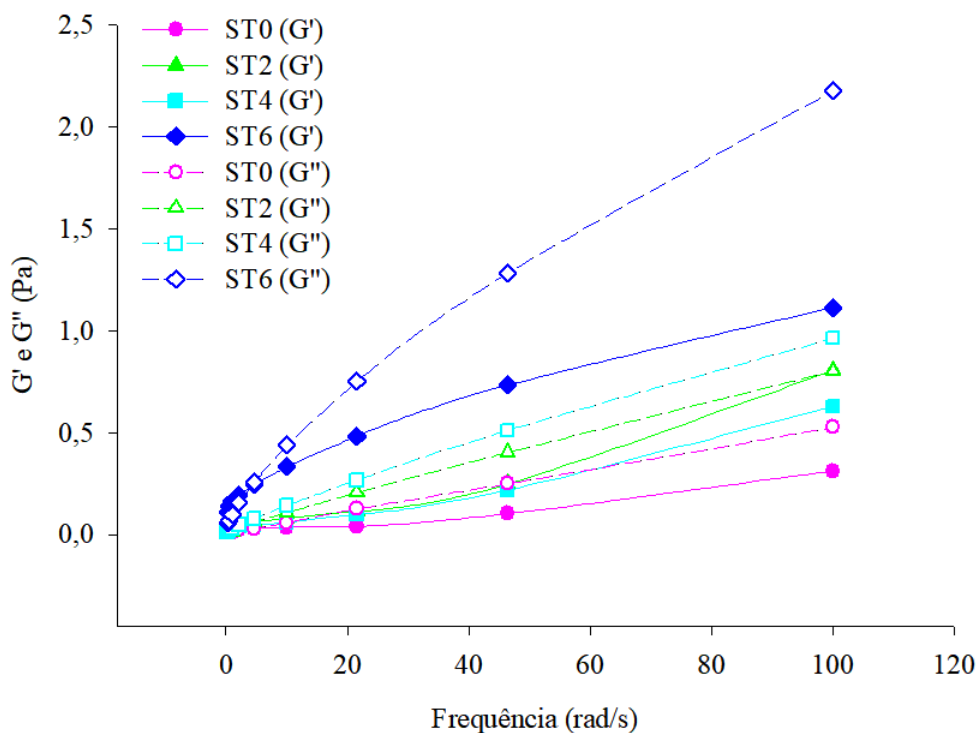
A diminuição da viscosidade complexa em função da frequência pode estar relacionada à reorganização estrutural dos componentes da matriz, particularmente das cadeias poliméricas e de outros constituintes de maior massa molecular. Em baixas frequências, o maior tempo disponível para a interação e o rearranjo dos constituintes pode favorecer a manutenção de uma estrutura mais organizada e resistente à deformação. Com o aumento da frequência, a orientação e a reestruturação dos componentes na direção da deformação podem reduzir as interações responsáveis pela resistência ao movimento, resultando em menor viscosidade complexa. Esse comportamento é compatível com o descrito em sistemas contendo biopolímeros, nos quais a aplicação de maiores taxas de deformação pode promover a orientação das cadeias moleculares e facilitar o escoamento (Szabo et al., 2020).

Outro aspecto observado foi que a composição das formulações também influenciou a resposta viscoelástica do sistema. A formulação ST6, com maior teor de FFCV, apresentou os maiores valores de viscosidade complexa, especialmente nas menores frequências

analisadas. Esse resultado sugere que o aumento da concentração de FFCV promoveu maior resistência à deformação e pode estar relacionado ao aumento do teor de sólidos e às interações entre os constituintes da farinha e os demais componentes da solução encapsulante. De forma semelhante, Sakoui et al. (2022) relataram que, em condições de menor deformação, a interação e o emaranhamento entre partículas e componentes estruturais podem favorecer a formação de uma matriz mais resistente ao fluxo.

A Figura 3 apresenta os módulos de armazenamento (G') e de perda (G'') das soluções encapsulantes em função da frequência angular.

Figura 3. Módulos dinâmicos de armazenamento (G') e de perda (G'') das soluções encapsulantes em função da frequência.



ST0: solução encapsulante T0; ST2: solução encapsulante T2; ST4: solução encapsulante T4; ST6: solução encapsulante T6. T0: 15 % de maltodextrina e 1 % de pectina; T2: 13 % de maltodextrina, 1 % de pectina e 2 % de FFCV; T4: 11 % de maltodextrina, 1 % de pectina e 4 % de FFCV; T6: 9 % de maltodextrina, 1 % de pectina e 6 % de FFCV. FFCV: farinha de feijão-de-corda verde.

Para todas as formulações, ambos os módulos aumentaram à medida que a frequência aumentava, evidenciando uma resposta viscoelástica dependente da frequência e indicando que a resistência do sistema à deformação se intensifica sob condições de maior frequência de oscilação. Entre as formulações avaliadas, ST6 apresentou os maiores valores de G' e G'' ao longo de toda a faixa de frequência analisada, enquanto ST0 apresentou os

menores, o que pode estar associado à intensificação das interações entre os constituintes da FFCV e os demais componentes da matriz encapsulante, resultando em uma estrutura com maior resistência à deformação.

Em todas as formulações e frequências avaliadas, G'' permaneceu superior a G' , indicando predominância do comportamento viscoso sobre o elástico. Essa relação demonstra que a componente dissipativa da resposta reológica foi superior à componente elástica, de modo que a energia imposta durante a deformação é predominantemente dissipada na forma de fluxo, em vez de ser armazenada temporariamente na estrutura do material. Esse comportamento é compatível com sistemas de baixa organização estrutural, nos quais a mobilidade molecular favorece a predominância da resposta viscosa. Resultados semelhantes foram relatados por Montoya-Soto et al. (2025), que observaram comportamento predominantemente viscoso ($G'' > G'$) em diferentes soluções de materiais de revestimento à base de mucilagem de aloe vera, isolado de proteína de soro de leite e goma arábica.

Os resultados viscoelásticos são consistentes com o comportamento observado nas curvas de fluxo e de viscosidade complexa. Enquanto os ensaios de fluxo demonstraram comportamento pseudoplástico, caracterizado pela redução da viscosidade aparente com o aumento da taxa de cisalhamento, a análise oscilatória evidenciou a contribuição relativa dos componentes viscoso e elástico da matriz. A predominância de G'' , associada à redução da viscosidade sob maiores taxas de deformação, indica que as soluções apresentam comportamento predominantemente fluido, porém com contribuição estrutural elástica. Essas características são relevantes para o processamento de secagem por atomização, uma vez que propriedades reológicas adequadas podem favorecer o bombeamento e a atomização da alimentação, enquanto a resposta viscoelástica da matriz pode influenciar a formação e a estabilidade das gotículas durante a secagem (Porfirio et al., 2021).

3.2. Eficiência do encapsulamento de *Lmb. reuteri*

Para avaliar a eficiência do encapsulamento de *Lmb. reuteri*, a viabilidade do probiótico foi medida antes e após o processo de secagem por atomização e os resultados são apresentados na Tabela 2.

Observou-se que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos na contagem de células viáveis antes da secagem por atomização, indicando que todas as formulações partiram de condições microbiológicas equivalentes. Esse resultado permite

avaliar o efeito das matrizes encapsulantes sobre a sobrevivência de *Lmb. reuteri* durante o processo.

Tabela 2. Contagem de células viáveis de *Lmb. reuteri* antes e após o processo de secagem por atomização e eficiência do encapsulamento.

Tratamento	Antes (Log ₁₀ UFC/g)	Após (Log ₁₀ UFC/g)	Redução logarítmica	Eficiência (%)
T0	10,28 ± 0,07 ^A	8,10 ± 0,07 ^D	2,19	78,72 ± 1,30 ^C
T2	10,30 ± 0,11 ^A	8,53 ± 0,14 ^C	1,77	82,80 ± 1,73 ^B
T4	10,35 ± 0,17 ^A	9,02 ± 0,08 ^B	1,33	87,20 ± 1,02 ^A
T6	10,32 ± 0,13 ^A	9,36 ± 0,05 ^A	0,96	90,73 ± 1,81 ^A

T0: 15 % de maltodextrina e 1 % de pectina; T2: 13 % de maltodextrina, 1 % de pectina e 2 % de FFCV; T4: 11 % de maltodextrina, 1 % de pectina e 4 % de FFCV; T6: 9 % de maltodextrina, 1 % de pectina e 6 % de FFCV. FFCV: farinha de feijão-de-corda verde.

^{A, B, C, D} Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos para cada parâmetro analisado.

Após a secagem, verificou-se redução da viabilidade celular em todos os tratamentos. Segundo Liu et al. (2026), essa redução é esperada devido às condições severas do processamento, como altas temperaturas, rápida desidratação e estresse por pressão osmótica, fatores que podem comprometer a integridade da membrana celular e a atividade metabólica dos microrganismos. Costa et al. (2025) relataram redução na viabilidade de probióticos submetidos à secagem por atomização a 130 °C, com valores variando de 9,55 a 10,62 Log UFC/g antes e de 6,56 a 7,79 Log UFC/g após o processo.

No entanto, a redução da viabilidade variou significativamente entre as formulações ($p \leq 0,05$). Os tratamentos T6 e T4 apresentaram menor redução logarítmica e maior eficiência de encapsulamento, enquanto T0 apresentou maior perda celular e, consequentemente, menor eficiência. Esses resultados indicam que o aumento da proporção da FFCV promoveu maior proteção às células de *Lmb. reuteri* durante a secagem.

Esse efeito também pode ser atribuído à composição da FFCV, rica em amido, fibras alimentares e proteínas, que contribuem para a formação de uma rede estrutural mais resistente. Esses componentes atuam como barreira física à transferência de calor e de massa, reduzindo o impacto do estresse térmico ou da desidratação sobre as células e a probabilidade de colapso estrutural ou de vazamento celular (Sardar et al., 2024; Yin et al., 2024). De acordo com Santos et al. (2025), materiais de revestimento ricos em amido promovem a formação de matrizes mais robustas e flexíveis, enquanto as proteínas de leguminosas atuam

como agentes emulsificantes, melhorando a dispersão das células probióticas na solução encapsulante e a estabilidade das microcápsulas.

Resultados semelhantes foram observados por Kamble et al. (2024), que verificaram aumento significativo na eficiência do encapsulamento com a adição da farinha de banana verde, sendo a formulação com 4 % desse material (79,93 %) superior à formulação controle, composta por maltodextrina e goma arábica (71,07 %). Esses achados reforçam o papel de ingredientes vegetais como componentes funcionais na matriz encapsulante.

De forma geral, os resultados demonstram que a composição da matriz encapsulante exerceu influência significativa sobre a viabilidade de *Lmb. reuteri* após a secagem por atomização. A incorporação da FFCV mostrou-se uma estratégia promissora, não apenas por aumentar a proteção celular durante o processamento, mas também por agregar valor funcional às microcápsulas, em razão da presença de compostos com potencial prebiótico.

3.3. Caracterização das microcápsulas de *Lbm. reuteri*

3.3.1. Aspectos morfológicos

Os aspectos morfológicos das microcápsulas de *Lmb. reuteri* produzidas por secagem por atomização são apresentados na Figura 4.



MT0: microcápsulas T0; MT2: microcápsulas T2; MT4: microcápsulas T4; MT6: microcápsulas T6. T0: 15 % de maltodextrina e 1 % de pectina; T2: 13 % de maltodextrina, 1 % de pectina e 2 % de FFCV; T4: 11 % de maltodextrina, 1 % de pectina e 4 % de FFCV; T6: 9 % de maltodextrina, 1 % de pectina e 6 % de FFCV. FFCV: farinha de feijão-de-corda verde.

Observou-se a formação de microcápsulas predominantemente esféricas, com superfície contínua e sem evidências de rachaduras ou rupturas. Essa integridade estrutural é

indicativa de uma matriz encapsulante eficiente, uma vez que superfícies mais homogêneas e de menor porosidade tendem a oferecer maior proteção aos microrganismos frente a fatores ambientais adversos, como oxigênio, umidade, acidez e variações de temperatura, o que contribui para maior estabilidade e viabilidade celular (Kamble et al., 2024).

Além disso, verificou-se a presença de microcápsulas com concavidade e enrugamento superficiais, bem como heterogeneidade no tamanho das partículas. Essas características são típicas de partículas obtidas por secagem por atomização, processo no qual a rápida evaporação da água promove a formação de uma película superficial ao redor da gotícula. A subsequente contração da estrutura interna pode resultar em colapso parcial da partícula, originando superfícies enrugadas ou com concavidades, além de favorecer a formação de microcápsulas de diferentes dimensões e a eventual ocorrência de aglomerados (Gazalian et al., 2025; Costa et al., 2023).

Morfologias semelhantes têm sido relatadas para microcápsulas probióticas obtidas por secagem por atomização. Costa et al. (2025), ao microencapsularem *Lactocaseibacillus rhamnosus*, e Bagdat et al. (2024), ao microencapsularem três cepas probióticas (*Lactiplantibacillus plantarum*, *Lactiplantibacillus pentosus* e *Limosilactobacillus fermentum*), observaram partículas esféricas e superfícies com distintos graus de enrugamento e concavidades, semelhantes aos achados do presente estudo.

Os aspectos morfológicos das microcápsulas observados, associados à elevada eficiência do encapsulamento (> 78%), indicam a formação de uma matriz estruturalmente estável e funcional. Esses resultados sugerem que as interações entre os materiais de revestimento foram adequadas para promover a formação de microcápsulas com boa integridade física, o que reflete diretamente na capacidade de proteção de *Lmb. reuteri* durante o processo de secagem.

3.3.2. Propriedades físico-químicas

A Tabela 3 apresenta as propriedades físico-químicas das microcápsulas de *Lmb. reuteri* produzidas por secagem por atomização. Todos os parâmetros diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos, evidenciando a influência da composição da matriz encapsulante nas propriedades físico-químicas do pó obtido.

Tabela 3. Valores médios $\pm$ desvios-padrão das propriedades físico-químicas das microcápsulas de *Lmb. reuteri*.

Tratamento	a_w	Teor de umidade (%)	Solubilidade (%)
MT0	$0,273 \pm 0,01^C$	$4,83 \pm 0,06^C$	$94,47 \pm 1,44^A$
MT2	$0,287 \pm 0,01^{BC}$	$5,17 \pm 0,12^B$	$92,08 \pm 2,06^{AB}$
MT4	$0,315 \pm 0,02^{AB}$	$5,23 \pm 0,06^B$	$88,44 \pm 2,69^{BC}$
MT6	$0,331 \pm 0,01^A$	$5,50 \pm 0,10^A$	$84,17 \pm 0,91^C$

MT0: microcápsulas T0; MT2: microcápsulas T2; MT4: microcápsulas T4; MT6: microcápsulas T6. T0: 15 % de maltodextrina e 1 % de pectina; T2: 13 % de maltodextrina, 1 % de pectina e 2 % de FFCV; T4: 11 % de maltodextrina, 1 % de pectina e 4 % de FFCV; T6: 9 % de maltodextrina, 1 % de pectina e 6 % de FFCV. FFCV: farinha de feijão-de-corda verde; a_w : atividade de água.

^{A, B, C} Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos para cada parâmetro analisado.

Observou-se que a a_w aumentou progressivamente com o incremento da proporção de FFCV, sendo menor em MT0 e maior em MT6. Tendência semelhante foi relatada em microcápsulas produzidas com farinha de batata-doce, com a_w de 0,431 na formulação com 5 % de farinha e de 0,376 na formulação com 4 % (Costa et al., 2023). Esse comportamento pode estar relacionado à maior capacidade de retenção de água da FFCV, devido à presença de fibras alimentares, polissacarídeos e proteínas, cujos grupos hidrofílicos são capazes de interagir com moléculas de água, aumentando a fração de água ligada no sistema (Díaz-Montes, 2023). Apesar desse aumento, todos os valores permaneceram abaixo de 0,4, faixa considerada adequada à estabilidade microbiológica e química de produtos desidratados (Montoya-Soto et al., 2025).

De forma semelhante, o teor de umidade também aumentou com a incorporação da FFCV, com MT0 apresentando o menor valor e MT6 o maior. Resultado semelhante foi reportado por Santos et al. (2025), que observaram maiores teores de umidade em microcápsulas com maior proporção de proteína de ervilha e farinha de tapioca (6,70 %) e menor valor na formulação com maior concentração de maltodextrina (5,19 %). Esse comportamento reforça o efeito da composição da matriz, uma vez que materiais ricos em fibras e proteínas tendem a apresentar maior retenção de água após o processo de secagem.

Adicionalmente, o aumento da umidade pode estar associado à formação de uma matriz mais densa e menos porosa, o que dificulta a difusão e a evaporação da água durante o processo de atomização (Barajas-Álvarez et al., 2022). Segundo Costa et al. (2025), pós com teores de umidade entre 4 e 7 % são recomendados para garantir a estabilidade durante o

armazenamento, o que indica que os valores obtidos neste estudo se encontram na faixa considerada adequada.

Com relação à solubilidade em água, observou-se um comportamento inverso, com redução significativa à medida que aumentava a proporção de FFCV. Assim, MT0 apresentou o maior valor, enquanto MT6 o menor. Resultados semelhantes foram relatados por Barajas-Álvarez et al. (2022), que também relataram influência dos materiais de revestimento na solubilidade das microcápsulas, com maior solubilidade em sistemas contendo goma arábica e maltodextrina (89,35 %) e menor em formulações com goma arábica e inulina (84,73 %).

A redução da solubilidade pode ser atribuída à substituição parcial da maltodextrina, altamente solúvel, por FFCV, que contém frações menos solúveis, como fibras insolúveis e estruturas amiláceas mais complexas. Como consequência, ocorre diminuição da capacidade de dispersão e de dissolução das partículas em meio aquoso (Santos et al., 2025; Abebe & Alemayehu, 2022). Apesar dessa redução, todas as microcápsulas apresentaram solubilidade superior a 84 %, característica desejável para aplicações tecnológicas, pois favorece a incorporação em diversas matrizes alimentícias, especialmente em sistemas que exigem rápida dispersão (Costa et al., 2023).

De modo geral, os resultados demonstram que a incorporação da FFCV influenciou significativamente as propriedades físico-químicas das microcápsulas, promovendo maior retenção de água e redução da solubilidade. Esses efeitos refletem diretamente a composição da matriz encapsulante e evidenciam que a escolha dos materiais deve considerar o equilíbrio entre a estabilidade do probiótico e a funcionalidade do ingrediente no produto final.

3.3.3. Cor instrumental

Os índices de cor (L^* , a^* , b^* , C^* e h°) das microcápsulas de *Lmb. reuteri* são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Características de cor das microcápsulas de *Lmb. reuteri*.

Tratamento	L^*	a^*	b^*	C^*	h°
MT0	$96,43 \pm 0,04^A$	$-0,31 \pm 0,03^A$	$3,54 \pm 0,01^D$	$3,55 \pm 0,01^D$	$95,07 \pm 0,35^A$
MT2	$93,71 \pm 0,02^B$	$-0,28 \pm 0,02^A$	$6,06 \pm 0,03^C$	$6,06 \pm 0,02^C$	$92,73 \pm 0,09^B$
MT4	$92,66 \pm 0,01^C$	$-0,58 \pm 0,02^B$	$6,29 \pm 0,01^B$	$6,32 \pm 0,01^B$	$95,45 \pm 0,16^A$
MT6	$90,52 \pm 0,05^D$	$-0,54 \pm 0,02^B$	$8,54 \pm 0,02^A$	$8,55 \pm 0,02^A$	$92,37 \pm 0,14^B$

MT0: microcápsulas T0; MT2: microcápsulas T2; MT4: microcápsulas T4; MT6: microcápsulas T6. T0: 15 % de maltodextrina e 1 % de pectina; T2: 13 % de maltodextrina, 1 % de pectina e 2 % de FFCV; T4: 11 % de

maltodextrina, 1 % de pectina e 4 % de FFCV; T6: 9 % de maltodextrina, 1 % de pectina e 6 % de FFCV. FFCV: farinha de feijão-de-corda verde.

A, B, C, D Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos para cada parâmetro analisado.

Todos os índices de cor das microcápsulas de *Lmb. reuteri* apresentaram diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos, indicando que a variação na proporção dos materiais de revestimento influenciou diretamente as características de coloração das microcápsulas.

O índice L^* foi significativamente maior ($p \leq 0,05$) em MT0, enquanto MT6 apresentou o menor valor. Esse comportamento sugere que a substituição parcial da maltodextrina por FFCV contribuiu para o escurecimento gradual das microcápsulas. Com relação ao índice a^* , todas as amostras apresentaram valores negativos, indicando a predominância da tonalidade levemente esverdeada. No entanto, observaram-se diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos, sendo que MT4 e MT6 apresentaram valores mais negativos.

O índice b^* apresentou aumento significativo ($p \leq 0,05$) com a adição da FFCV. Dessa forma, MT6 apresentou o maior valor, indicando maior tendência à tonalidade amarelada. O índice C^* apresentou comportamento semelhante ao observado para b^* , evidenciando que o aumento da proporção de FFCV intensifica a coloração das microcápsulas. Por fim, o índice h° indicou predominância de coloração na região amarelo-esverdeada do espaço de cor CIELAB.

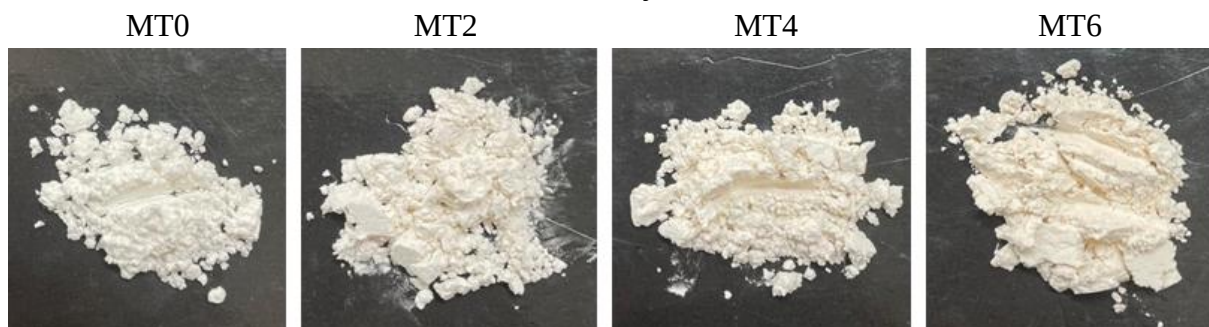
Kamble et al. (2024) relataram que o uso da farinha de banana verde, como um dos materiais de revestimento no encapsulamento de probióticos, também promoveu alterações significativas em todos os parâmetros de cor das microcápsulas, sendo observada redução da brancura com o aumento da concentração da farinha vegetal na formulação.

A maltodextrina é utilizada como agente encapsulante devido à sua coloração clara e à alta solubilidade, o que favorece a obtenção de pós com valores elevados de luminosidade (L^*). Como resultado, obtêm-se pós de tonalidade branca ou creme, considerados adequados para incorporação a diferentes matrizes alimentícias, sem comprometer a cor original do produto (Shofinita et al., 2025). No presente estudo, os resultados indicam que a incorporação da FFCV como componente da matriz de revestimento promove a redução da luminosidade e o aumento da intensidade da cor das microcápsulas. Esse comportamento pode estar associado à presença de pigmentos naturais da farinha, que podem contribuir para alterações nos

parâmetros cromáticos, especialmente quando utilizados em maiores proporções nas formulações.

As diferenças observadas nos índices de cor também podem ser visualizadas na Figura 5.

Figura 5. Aspecto visual das microcápsulas de *Lmb. reuteri* produzidas por secagem por atomização.



MT0: microcápsulas T0; MT2: microcápsulas T2; MT4: microcápsulas T4; MT6: microcápsulas T6. T0: 15 % de maltodextrina e 1 % de pectina; T2: 13 % de maltodextrina, 1 % de pectina e 2 % de FFCV; T4: 11 % de maltodextrina, 1 % de pectina e 4 % de FFCV; T6: 9 % de maltodextrina, 1 % de pectina e 6 % de FFCV. FFCV: farinha de feijão-de-corda verde.

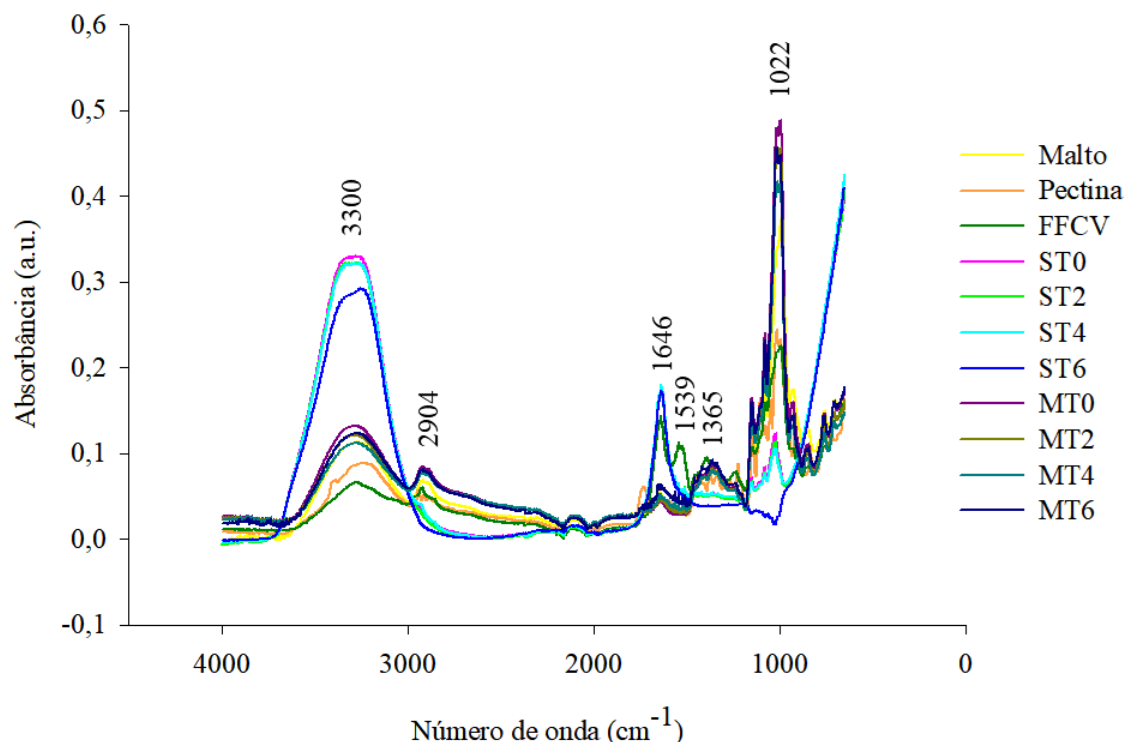
A análise visual das microcápsulas de *Lmb. reuteri* confirma os resultados instrumentais, evidenciando uma alteração gradual da coloração à medida que aumenta a proporção de FFCV na formulação. Apesar dessas variações, as microcápsulas mantiveram coloração clara e ficaram dentro de uma faixa de luminosidade (90-100) considerada adequada para aplicação em produtos alimentícios (Shofinita et al., 2025).

3.3.4. Análise espectroscópica

Para uma compreensão mais aprofundada do mecanismo de proteção de *Lmb. reuteri* em microcápsulas obtidas por secagem por atomização, a composição química dos materiais de revestimento, das soluções encapsulantes e das microcápsulas foi analisada por espectroscopia no MIR. Os espectros de absorbância obtidos são apresentados na Figura 6.

Os espectros evidenciam diferenças no perfil espectral em função do nível de organização do sistema, permitindo avaliar as interações formadas durante o processo de encapsulamento. Foram identificadas seis bandas principais, localizadas aproximadamente em 3300, 2904, 1646, 1539, 1365 e 1022 cm^{-1} , com variações de intensidade entre as amostras.

Figura 6. Espectros médios obtidos por MIR dos materiais de revestimento, das soluções encapsulantes e das microcápsulas de *Lmb. reuteri*.



Malto: maltodextrina; FFCV: farinha de feijão-de-corda verde. ST0: solução encapsulante T0; ST2: solução encapsulante T2; ST4: solução encapsulante T4; ST6: solução encapsulante T6. MT0: microcápsulas T0; MT2: microcápsulas T2; MT4: microcápsulas T4; MT6: microcápsulas T6. T0: 15 % de maltodextrina e 1 % de pectina; T2: 13 % de maltodextrina, 1 % de pectina e 2 % de FFCV; T4: 11 % de maltodextrina, 1 % de pectina e 4 % de FFCV; T6: 9 % de maltodextrina, 1 % de pectina e 6 % de FFCV.

A banda na região em torno de 3300 cm^{-1} é atribuída ao estiramento simétrico e assimétrico do grupo O-H (Kim et al., 2023). Essa banda apresentou maior intensidade nas soluções encapsulantes (ST), o que pode ser associado ao maior teor de água e à elevada disponibilidade de grupos hidroxila, que interagem por meio de ligações de hidrogênio. Nas microcápsulas (MT), observou-se redução da intensidade, indicando diminuição do conteúdo de água e predominância de interações polímero-polímero, que resultou em uma matriz mais organizada. Esse comportamento é consistente com o processo de secagem por atomização, no qual ocorre a rápida remoção de água e formação de estruturas mais densas e estáveis.

A banda em 2904 cm^{-1} está relacionada ao estiramento de grupos C-H de cadeias alifáticas presentes em polissacarídeos e proteínas (Yeung et al., 2024). As bandas observadas em 1646 , 1539 e 1365 cm^{-1} são atribuídas às vibrações características das amidas I, II e III, associadas aos grupos C=O, N-H e C-N, respectivamente, provenientes principalmente das proteínas da FFCV e dos grupos carboxílicos da pectina (Zhang et al., 2022).

A banda localizada na região de 1365 cm^{-1} é atribuída à deformação de vibrações O-H, C-O-H e C-C-H, enquanto a banda em 1022 cm^{-1} indica o estiramento C-O-C de ligações glicosídicas, associado à presença de carboidratos (Kim et al., 2023). Nessa região, as microcápsulas apresentaram maior intensidade do que os materiais isolados e as soluções encapsulantes, sugerindo reorganização estrutural e maior integração entre os componentes da matriz polimérica.

De acordo com Lin et al. (2022), a formação de ligações de hidrogênio entre os materiais de revestimento contribui para o aumento da integridade estrutural das microcápsulas. A FFCV apresenta elevada densidade de grupos funcionais, como O-H, N-H e COOH, decorrentes da presença de carboidratos, proteínas e fibras. Esses grupos favorecem a formação de interações intermoleculares com a maltodextrina (rica em grupos OH) e com a pectina (rica em grupos OH e COOH), promovendo a formação de uma rede polimérica coesa e estruturalmente estável, capaz de proteger *Lmb. reuteri* encapsulado.

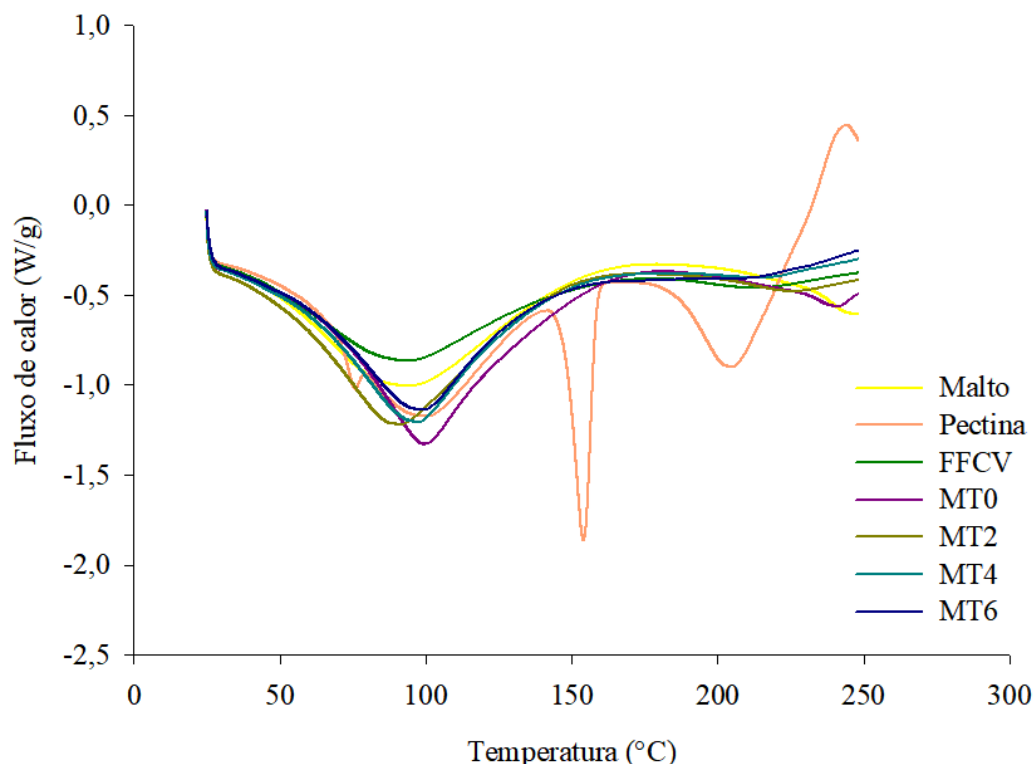
Resultados semelhantes foram relatados por Kamble et al. (2024) ao microencapsularem *L. rhamnosus* com maltodextrina, goma arábica e farinha de banana verde pelo método de secagem por atomização, cujos espectros de FTIR evidenciaram padrões característicos de interações intermoleculares entre os materiais de revestimento, corroborando os achados do presente estudo.

3.3.5. Propriedades térmicas

Os termogramas de DSC dos materiais de revestimento e das microcápsulas de *Lmb. reuteri* são apresentados na Figura 7, enquanto os parâmetros associados aos eventos térmicos estão na Tabela 5. Os resultados evidenciaram um comportamento térmico dependente da composição das amostras, particularmente quanto à intensidade dos eventos endotérmicos e à energia envolvida nesses processos.

Em todas as amostras, observou-se um primeiro evento endotérmico, com temperaturas de pico entre $92,30$ e $99,75\text{ }^{\circ}\text{C}$. Considerando a faixa de temperatura e a natureza higroscópica dos componentes avaliados, esse evento pode ser associado principalmente à remoção de água livre e fracamente ligada à matriz (Wani & Uppaluri, 2023).

Figura 7. Comportamento térmico dos materiais de revestimento e das microcápsulas de *Lmb.reuteri*.



Malto: maltodextrina; FFCV: farinha de feijão-de-corda verde; MT0: microcápsulas T0; MT2: microcápsulas T2; MT4: microcápsulas T4; MT6: microcápsulas T6. T0: 15 % de maltodextrina e 1 % de pectina; T2: 13 % de maltodextrina, 1 % de pectina e 2 % de FFCV; T4: 11 % de maltodextrina, 1 % de pectina e 4 % de FFCV; T6: 9 % de maltodextrina, 1 % de pectina e 6 % de FFCV.

Tabela 5. Características dos eventos térmicos dos materiais de revestimento e das microcápsulas de *Lmb. reuteri*.

Amostra	Evento	Temperatura de início (°C)	Temperatura de pico (°C)	Temperatura final (°C)	Entalpia (ΔH) (J/g)
Malto	I	28,10	93,14	160,45	257,81
Pectina	I	29,48	96,74	138,56	204,58
Pectina	II	141,90	154,16	161,26	57,33
Pectina	III	181,61	205,43	223,09	66,10
FFCV	I	30,22	92,30	166,28	191,31
MT0	I	30,32	99,75	167,03	309,76
MT2	I	28,55	90,80	154,26	282,85
MT4	I	28,38	96,90	160,25	275,54
MT6	I	29,59	98,42	159,35	244,45

FFCV: farinha de feijão-de-corda verde; MT0: microcápsulas T0; MT2: microcápsulas T2; MT4: microcápsulas T4; MT6: microcápsulas T6. T0: 15 % de maltodextrina e 1 % de pectina; T2: 13 % de maltodextrina, 1 % de pectina e 2 % de FFCV; T4: 11 % de maltodextrina, 1 % de pectina e 4 % de FFCV; T6: 9 % de maltodextrina, 1 % de pectina e 6 % de FFCV.

A pectina apresentou um perfil térmico distinto das demais amostras, com dois eventos térmicos adicionais, evidenciando sua natureza estruturalmente heterogênea. O segundo evento, com pico de degradação em 154,16 °C, pode ser associado à reorganização estrutural ou ao início da degradação da cadeia polimérica. Já o terceiro evento, com pico em 205,43 °C, corresponde à degradação térmica mais intensa, envolvendo a ruptura de ligações glicosídicas. Resultados semelhantes foram reportados por Zhou et al. (2024), que observaram eventos endotérmicos na faixa de 222 a 228 °C, atribuídos à decomposição da pectina.

Em contraste com a pectina, a maltodextrina, a FFCV e as microcápsulas apresentaram transições térmicas mais suaves, o que pode ser atribuído à natureza predominantemente amorfa desses materiais, que não apresentam transições de fase bem definidas. Esses resultados estão em concordância com Montoya-Soto et al. (2025), que relataram perfis térmicos semelhantes para microcápsulas de probióticos obtidas por secagem por atomização, com pico endotérmico próximo de 100 °C, associado à perda de umidade, e ausência de transições de fase significativas até 250-300 °C.

Um aspecto relevante foi a ausência dos picos característicos de degradação da pectina (154,16 e 205,43 °C) nos termogramas das microcápsulas. Esse comportamento sugere que os componentes da pectina não se encontram em sua forma livre, mas sim organizados em uma matriz estruturada, resultante de suas interações intermoleculares com a maltodextrina, a FFCV e os demais constituintes da formulação, o que reforça os resultados obtidos por MIR, que indicaram a formação de uma rede polimérica integrada. De forma semelhante, Yeung et al. (2024) observaram um pico exotérmico do alginato de sódio a 237 °C, que não foi detectado em sistemas encapsulados, indicando interação eficiente entre os materiais de revestimento.

Verificou-se que o aumento da proporção de FFCV promoveu alterações na intensidade e na posição dos eventos térmicos, o que também pode estar relacionado ao fortalecimento das interações intermoleculares, especialmente por meio de ligações de hidrogênio, entre a FFCV e os demais componentes da matriz. Thinkohkaew et al. (2025) observaram aumento da estabilidade térmica de microcápsulas na presença de frutooligossacarídeos (FOS), atribuindo esse efeito à formação de ligações de hidrogênio entre os componentes da matriz.

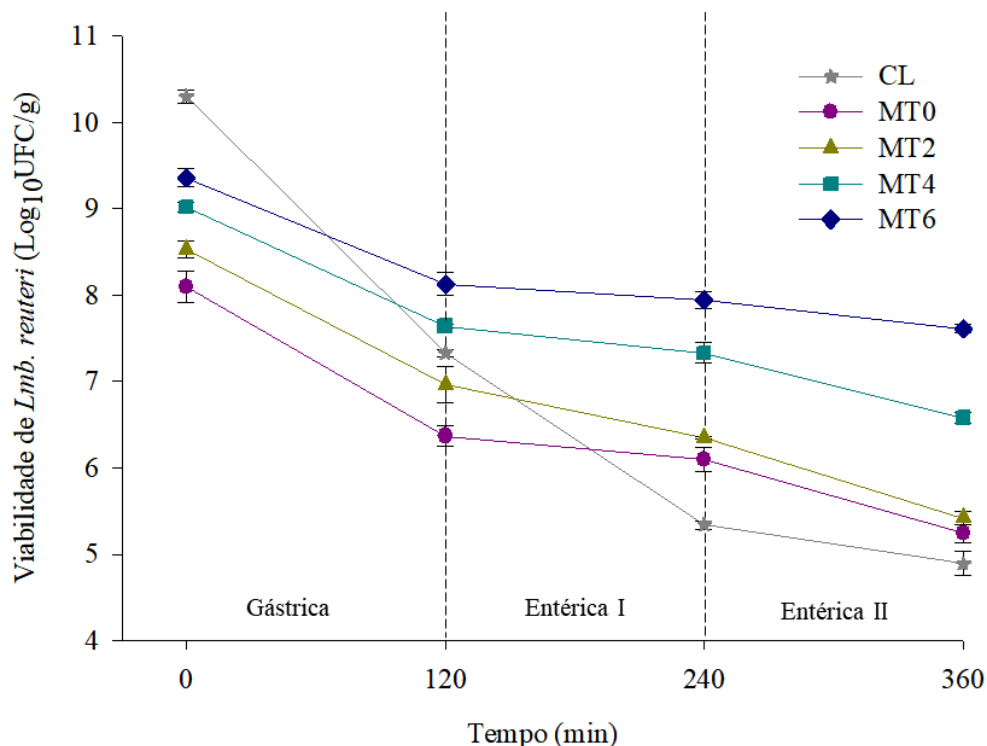
Os resultados de DSC indicam que a composição da matriz encapsulante influencia diretamente o comportamento térmico das microcápsulas, evidenciando a formação de

sistemas estruturalmente integrados e com estabilidade térmica adequada. Essas características são relevantes do ponto de vista tecnológico, uma vez que sugerem maior resistência a variações de temperatura durante o processamento e o armazenamento, contribuindo para a proteção e a viabilidade do microrganismo encapsulado.

3.4. Viabilidade de *Lmb. reuteri* livre e microencapsulado durante digestão gastrointestinal *in vitro*

A sobrevivência de microrganismos probióticos em condições gastrointestinais é essencial para garantir a entrega e o acesso desses microrganismos ao local de ação, bem como sua sobrevivência em quantidades suficientes para promover benefícios à saúde. Para avaliar isso, tanto as células livres quanto as microcápsulas foram submetidas à digestão gastrointestinal *in vitro* e os resultados são apresentados na Figura 8.

Figura 8. Viabilidade de *Lmb. reuteri* livre e encapsulado durante a digestão gastrointestinal *in vitro*.



CL: células livres; MT0: microcápsulas T0; MT2: microcápsulas T2; MT4: microcápsulas T4; MT6: microcápsulas T6. T0: 15 % de maltodextrina e 1 % de pectina; T2: 13 % de maltodextrina, 1 % de pectina e 2 % de FFCV; T4: 11 % de maltodextrina, 1 % de pectina e 4 % de FFCV; T6: 9 % de maltodextrina, 1 % de pectina e 6 % de FFCV. FFCV: farinha de feijão-de-corda verde.

A viabilidade de *Lmb. reuteri*, livre e microencapsulado, apresentou redução significativa ($p \leq 0,05$) ao longo do tempo de digestão *in vitro*, com comportamento dependente da forma de incorporação e da composição da matriz encapsulante.

Na fase gástrica (120 min), simulando as condições do estômago, observou-se redução acentuada da viabilidade das CL (≈ 3 unidades logarítmicas), seguida das microcápsulas MT0, MT2, MT4 e MT6, que apresentaram reduções logarítmicas de 1,73, 1,57, 1,38 e 1,24, respectivamente. Essa redução está associada, principalmente, ao ambiente altamente ácido ($\text{pH} < 2,5$), que pode comprometer a integridade da membrana celular, reduzir o pH citoplasmático e inibir a atividade metabólica bacteriana (Yao et al., 2020). A menor perda observada nas microcápsulas evidenciou o efeito protetor na matriz encapsulante, que atuou como barreira à difusão de íons H^+ e à ação enzimática.

Na fase entérica I (240 min), que simula o intestino delgado, observou-se continuidade na redução da viabilidade de *Lmb. reuteri* em todos os tratamentos, porém, com menor intensidade em relação à fase gástrica. As CL apresentaram redução de aproximadamente 2 unidades logarítmicas, enquanto as microcápsulas apresentaram reduções inferiores a 1, indicando maior resistência às condições intestinais iniciais.

Na fase entérica II (360 min), verificou-se redução adicional da viabilidade de *Lmb. reuteri*, atribuída à exposição prolongada aos sais biliares e ao estresse oxidativo, fatores que podem causar danos à membrana celular, ao DNA e a outros componentes intracelulares (Han et al., 2021). Nessa etapa, CL apresentaram viabilidade inferior a 5 Log_{10} UFC/g, enquanto as microcápsulas mantiveram maior estabilidade, com destaque para MT6, seguida por MT4, MT2 e MT0, com valores finais de 7,61, 6,58, 5,42 e 5,24 Log_{10} UFC/g, respectivamente.

A sobrevivência dos probióticos até a fase final da digestão é essencial, pois os microrganismos precisam alcançar o intestino delgado em estado viável e em quantidades adequadas ($> 6 \text{ Log UFC/g}$ ou mL) para exercer seus efeitos benéficos ao organismo, como o equilíbrio da microbiota intestinal e o suporte às funções imunológicas (Liu et al., 2023). Nesse contexto, somente as microcápsulas MT4 e MT6 atenderam a esse requisito, demonstrando maior potencial para aplicação como sistemas de entrega de *Lmb. reuteri*.

As condições gastrointestinais *in vitro* evidenciaram maior instabilidade das CL, com redução total de 5,42 unidades logarítmicas e taxa de sobrevivência de aproximadamente 48 %. Em contrapartida, as microcápsulas MT6 demonstraram resistência estrutural mais significativa ($p \leq 0,05$), com taxa de sobrevivência superior a 80 % e redução total de apenas

1,76 unidades logarítmicas. Esses resultados sugerem que, além de atuar como barreira física inicial, a matriz encapsulante promove a liberação gradual das células, protegendo parte da população microbiana ao longo das diferentes etapas da digestão. Resultados semelhantes foram reportados por Costa et al. (2025), que observaram maior resistência de *L. plantarum* microencapsulado (6,18 Log UFC/g e sobrevivência > 80 %), em comparação às células livres (4,08 Log UFC/g e sobrevivência ≈ 30 %).

Os materiais de revestimento empregados na produção das microcápsulas foram fundamentais para a proteção *Lmb. reuteri* em condições adversas do trato gastrointestinal. A presença de FFCV na matriz encapsulante provavelmente contribuiu para o aumento da resistência estrutural das microcápsulas, devido à formação de uma rede polimérica mais densa e coesa, favorecida por interações intermoleculares, como ligações de hidrogênio entre os constituintes. Esse comportamento é consistente com os resultados de eficiência do encapsulamento, propriedades reológicas e análises estruturais previamente discutidos.

O desempenho observado pode estar relacionado não apenas à estrutura física das microcápsulas, mas também ao caráter funcional da FFCV. Componentes com potencial prebiótico podem favorecer a sobrevivência de *Lmb. reuteri* em condições gastrointestinais adversas, contribuindo para a manutenção da viabilidade celular. Resultados semelhantes foram relatados por Kamble et al. (2024), que observaram maior taxa de sobrevivência de *L. rhamnosus* microencapsulado com maltodextrina, goma arábica e farinha de banana verde (≈ 10 Log UFC/g) em comparação ao uso de apenas maltodextrina e goma arábica (≈ 6 Log UFC/g). Os autores demonstraram que o aumento da concentração de farinha vegetal na matriz encapsulante está diretamente associado ao aumento da viabilidade durante a digestão. Santos et al. (2025) destacam que a incorporação de compostos com potencial prebiótico à matriz encapsulante pode ampliar a estabilidade e a funcionalidade dos probióticos em sistemas alimentares.

Considerando os resultados obtidos neste estudo, destacam-se tanto o potencial da FFCV como material de revestimento quanto o das microcápsulas desenvolvidas como sistemas eficazes de entrega de *Lmb. reuteri*, capazes de garantir a sobrevivência do probiótico até o local de ação no trato gastrointestinal.

4. Conclusão

O uso da FFCV, em combinação com maltodextrina e pectina, mostrou-se eficaz na manutenção da viabilidade de *Lmb. reuteri*. As microcápsulas obtidas apresentaram elevada integridade estrutural, estabilidade térmica e propriedades físicas e químicas adequadas para aplicações em sistemas alimentares. Quando submetidas às condições gastrointestinais *in vitro*, as formulações MT4 e MT6 garantiram altas contagens de células viáveis ($> 6 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g}$) na fase final da digestão, atendendo aos níveis considerados ideais para promoção de benefícios à saúde. Dessa forma, a incorporação da FFCV como componente da matriz encapsulante destaca-se como uma alternativa tecnológica relevante para o desenvolvimento de sistemas de entrega de probióticos, contribuindo tanto para a proteção celular quanto para o aumento do valor funcional das microcápsulas. Este estudo reforça o potencial de matérias-primas vegetais no desenvolvimento de ingredientes alimentícios inovadores, alinhando desempenho tecnológico, funcionalidade e sustentabilidade.

Referências

- Abebe, B. K., & Alemayehu, M. T. (2022). A review of the nutritional use of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) for human and animal diets. *Journal of Agriculture and Food Research*, 10, 100383. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100383>
- Agriopoulou, S., Tarapoulouzi, M., Varzakas, T., & Jafari, S. M. (2023). Application of encapsulation strategies for probiotics: from individual loading to co-encapsulation. *Microorganisms*, 11(12), 2896. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11122896>
- Bagdat, E. S., Akman, P. K., Kutlu, G., & Tornuk, F. (2024). Optimization of spray-drying process parameters for microencapsulation of three probiotic lactic acid bacteria selected by their high viability rate in sucrose and fructose levels and high temperatures. *Systems Microbiology and Biomanufacturing*, 4(2), 687-698. <https://doi.org/10.1007/s43393-023-00210-2>
- Barajas-Álvarez, P., González-Ávila, M., & Espinosa-Andrews, H. (2022). Microencapsulation of *Lactobacillus rhamnosus* HN001 by spray drying and its

evaluation under gastrointestinal and storage conditions. *Lwt*, 153, 112485. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112485>

- Bento, J. A. C., Ribeiro, P. R. V., Alexandre e Silva, L. M., Alves Filho, E. G., Bassinello, P. Z., de Brito, E. S., Calari, M., & Júnior, M. S. S. (2021). Chemical profile of colorful bean (*Phaseolus vulgaris* L) flours: Changes influenced by the cooking method. *Food Chemistry*, 356, 129718. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129718>
- Berenice, L. E. E., Rigoberto, B. F., Abraham, C. M., Yoliztli, M. P. N., & Minerva, R. O. (2026). Encapsulation and Functional Activity of *Lactobacillus reuteri* Strains: Advances, Challenges, and Perspectives. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 25(2), e70412. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.70412>
- Ceja-Medina, L. I., Ortiz-Basurto, R. I., Medina-Torres, L., Calderas, F., Bernad-Bernad, M. J., González-Laredo, R. F., ... & Manero, O. (2020). Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* by spray drying with mixtures of Aloe vera mucilage and agave fructans as wall materials. *Journal of Food Process Engineering*, 43(8), e13436. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13436>
- Costa, N. A., Amaral, E. P., Pereira, G. C., Silveira, L. R., do Amaral e Paiva, M. J., Leite Júnior, B. R. C., Stringheta, P. C., Paula, D. A., Martins, E. M. F., Martins, M. L., Vieira, É. N. R., Saldaña, M. D. A., & Ramos, A. M. (2025). Yacon flour (*Smallanthus sonchifolius*) as wall material for microencapsulation of *Lactobacillus rhamnosus* GG: Characterization of microparticles and its use in pitaya jelly. *Food and Bioprocess Technology*, 18(2), 1446-1463. <https://doi.org/10.1007/s11947-024-03526-6>
- Costa, N. A., de Almeida Paula, D., Brêda, J. D., Vieira, É. N. R., Martins, E. M. F., & Ramos, A. M. (2020). A symbiotic dessert composed of yam (*Dioscorea* sp.) and Ubá mango pulp (*Mangifera indica* L.). *Lwt*, 133, 110074. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110074>
- Costa, N. A., Silveira, L. R., Amaral, E. P., Pereira, G. C., Paula, D. A., Vieira, É. N. R., Martins, E. M. F., Stringheta, P. C., Leite Júnior, B. R. C., & Ramos, A. M. (2023). Use of maltodextrin, sweet potato flour, pectin and gelatin as wall material for microencapsulating *Lactiplantibacillus plantarum* by spray drying: thermal resistance,

- in vitro* release behavior, storage stability and physicochemical properties. *Food Research International*, 164, 112367. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112367>
- Díaz-Montes, E. (2023). Wall materials for encapsulating bioactive compounds via spray-drying: A review. *Polymers*, 15(12), 2659. <https://doi.org/10.3390/polym15122659>
- Gao, H., Ma, L., Sun, W., McClements, D. J., Cheng, C., Zeng, H., Zou, L., & Liu, W. (2022). Impact of encapsulation of probiotics in oil-in-water high internal phase emulsions on their thermostability and gastrointestinal survival. *Food Hydrocolloids*, 126, 107478. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107478>
- Gazalian, D., Aliahmadi, A., & Rafati, H. (2025). Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* using cellulose-based polymers by spray-drying: A probiotic-delivery system for enhanced acid-resistance and storage stability. *International Journal of Biological Macromolecules*, 311, 143634. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.143634>
- Gu, Q., Yin, Y., Yan, X., Liu, X., Liu, F., & McClements, D. J. (2022). Encapsulation of multiple probiotics, synbiotics, or nutraceuticals for improved health effects: A review. *Advances in Colloid and Interface Science*, 309, 102781. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2022.102781>
- Han, S., Lu, Y., Xie, J., Fei, Y., Zheng, G., Wang, Z., ... & Li, L. (2021). Probiotic gastrointestinal transit and colonization after oral administration: a long journey. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 11, 609722. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.609722>
- Hernández-Gallegos, M. A., Solorza-Feria, J., Cornejo-Mazón, M., Velázquez-Martínez, J. R., Rodríguez-Huezo, M. E., Gutiérrez-López, G. F., & Hernández-Sánchez, H. (2023). Protective effect of alginate microcapsules with different rheological behavior on *Lactiplantibacillus plantarum* 299v. *Gels*, 9(9), 682. <https://doi.org/10.3390/gels9090682>
- Herniter, I. A., Muñoz-Amatriaín, M., & Close, T. J. (2020). Genetic, textual, and archeological evidence of the historical global spread of cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.). *Legume Science*, 2(4), e57. <https://doi.org/10.1002/leg3.57>

- How, Y., & Pui, L. (2021). Effect of prebiotics encapsulated with probiotics on encapsulation efficiency, microbead size, and survivability: a review. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(6), 4899-4916. <https://doi.org/10.1007/s11694-021-01059-6>
- Huang, J., Hu, Z., Hu, L., Li, G., Yao, Q., & Hu, Y. (2021). Pectin-based active packaging: A critical review on preparation, physical properties and novel application in food preservation. *Trends in Food Science & Technology*, 118, 167-178. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.09.026>
- Hughes, M. H., Brugnoli, L. I., & Genovese, D. B. (2024). Mixed κ/ι -carrageenan-LM pectin gels: Relating the rheological and mechanical properties with the capacity for probiotic encapsulation. *International journal of biological macromolecules*, 273, 133009. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.133009>
- Kamble, M., Singh, A., Singh, S. V., Upadhyay, A., Kondepudi, K. K., & Chinchkar, A. V. (2024). Effect of gastrointestinal resistant encapsulate matrix on spray dried microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG powder and its characterization. *Food Research International*, 192, 114804. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114804>
- Kim, W., Wang, Y., Vongsivut, J., Ye, Q., & Selomulya, C. (2023). On surface composition and stability of β -carotene microcapsules comprising pea/whey protein complexes by synchrotron-FTIR microspectroscopy. *Food Chemistry*, 426, 136565. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136565>
- Latif, A., Shehzad, A., Niazi, S., Zahid, A., Ashraf, W., Iqbal, M. W., Rehman, A., Riaz, T., Aadil, R. M., Khan, I. M., Özogul, F., Rocha, J. M., Esatbeyoglu, T., & Korma, S. A. (2023). Probiotics: mechanism of action, health benefits and their application in food industries. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1216674. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1216674>
- Li, J., Zhang, S., Zhang, Z., Ren, S., Wang, D., Wang, X., Zhang, C., & Wang, M. (2021). Extraction and characterization of starch from Yard-long bean (*Vigna unguiculata* (L.) Walp. ssp. *unguiculata* cv.-gr. *sesquipedalis*). *International Journal of Biological Macromolecules*, 181, 1023-1029. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.04.127>

- Lin, D., Xiao, L., Li, S., Qin, W., Loy, D. A., Chen, H., & Zhang, Q. (2022). Effects of fructooligosaccharide and soybean protein isolate in the microencapsulation of walnut oil. *Industrial crops and products*, 177, 114431. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114431>
- Liu, C., Ma, N., Feng, Y., Zhou, M., Li, H., Zhang, X., & Ma, X. (2023). From probiotics to postbiotics: Concepts and applications. *Animal Research and One Health*, 1(1), 92-114. <https://doi.org/10.1002/aro2.7>
- Liu, X., Liu, M., Chen, K., Wang, Y., He, J., Hou, Z., Liang, Z., Zhang, G., Liu, L., & Li, C. (2026). Spraying-Drying Probiotic Microcapsules: Encapsulation Materials, Encapsulation Techniques, and Applications in Recent 10 Years. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 25(1), e70351. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.70351>
- Montoya-Soto, J. G., González-Laredo, R. F., Medina-Torres, L., Gallegos-Infante, J. A., Ochoa-Martínez, L. A., & Manero, O. (2025). Probiotic microencapsulation by spray drying using Aloe vera (*Aloe Barbadensis* Miller) mucilage, whey protein isolates and gum arabic as encapsulation agents. *CyTA-Journal of Food*, 23(1), 2587498. <https://doi.org/10.1080/19476337.2025.2587498>
- Ni, F., Luo, X., Zhao, Z., Yuan, J., Song, Y., Liu, C., Huang, M., Dong, L., Xie, H., Cai, L., Ren, G., & Gu, Q. (2023). Enhancing viability of *Lactobacillus plantarum* encapsulated by alginate-gelatin hydrogel beads during gastrointestinal digestion, storage and in the mimic beverage systems. *International Journal of Biological Macromolecules*, 224, 94-104. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.10.106>
- Onelli, R. R. V., de Jesus, J. C., Lins, R. P., da Capela, A. P., Soares, L. S., & Ferrão, S. P. B. (2026). Technological innovation in the production of matured buffalo cheese using artichoke flower extract (*Cynara cardunculus* L. var. scolymus) as a coagulant: organic acid profile, proteomic and sensory study. *International Dairy Journal*, 173, 106491. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2025.106491>
- Porfirio, T., Galindo-Rosales, F. J., Campo-Deano, L., Vicente, J., & Semiao, V. (2021). Rheological characterization of polymeric solutions used in spray drying

process. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 158, 105650. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2020.105650>

Pudžiuvėlytė, L., Petrauskaitė, E., Stabrauskienė, J., & Bernatoniienė, J. (2025). Spray-drying microencapsulation of natural bioactives: Advances in Sustainable Wall materials. *Pharmaceuticals*, 18(7), 963. <https://doi.org/10.3390/ph18070963>

Rajam, R., & Subramanian, P. (2022). Encapsulation of probiotics: past, present and future. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 11(1), 46. <https://doi.org/10.1186/s43088-022-00228-w>

Reque, P. M., & Brandelli, A. (2021). Encapsulation of probiotics and nutraceuticals: Applications in functional food industry. *Trends in Food Science & Technology*, 114, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.05.022>

Rodrigues, F. J., Cedran, M. F., Bicas, J. L., & Sato, H. H. (2020). Encapsulated probiotic cells: Relevant techniques, natural sources as encapsulating materials and food applications—A narrative review. *Food research international*, 137, 109682. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109682>

Sakoui, S., Derdak, R., Pop, O. L., Vodnar, D. C., Addoum, B., Teleky, B. E., ... & El Khalfi, B. (2022). Effect of encapsulated probiotic in Inulin-Maltodextrin-Sodium alginate matrix on the viability of *Enterococcus mundtii* SRBG1 and the rheological parameters of fermented milk. *Current research in food science*, 5, 1713-1719. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.09.027>

Samborska, K., Boostani, S., Geranpour, M., Hosseini, H., Dima, C., Khoshnoudi-Nia, S., Rostamabadi, H., Falsafi, S. R., Shaddel, R., Akbari-Alavijeh, S., & Jafari, S. M. (2021). Green biopolymers from by-products as wall materials for spray drying microencapsulation of phytochemicals. *Trends in Food Science & Technology*, 108, 297-325. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.008>

Santos, N. C., Almeida, R. L. J., Monteiro, S. S., de Lima, T. L. B., da Silva Lúcio, A., da Silva Nogueira, L. P., ... & Rocha, A. P. T. (2025). Microencapsulating *Lactocaseibacillus rhamnosus* GG by spray drying using pea protein, pectin, and tapioca

- flour: Probiotic viability, digestibility and thermal stability. *Food and Bioproducts Processing*, 150, 207-216. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2025.01.011>
- Sardar, H., Hadi, F., Alam, W., Halawani, I. F., Alzahrani, F. M., Saleem, R. A., Cerqua, I., Khan, H., & Capasso, R. (2024). Unveiling the therapeutic and nutritious potential of *Vigna unguiculata* in line with its phytochemistry. *Heliyon*. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e37911>
- Shevkani, K., Shivani, B., Dhaka, S. S., & Patil, C. (2025). Cowpeas for sustainable agriculture and nutrition security: an overview of their nutritional quality and agro-economic advantages. *Discover Food*, 5(1), 109. <https://doi.org/10.1007/s44187-025-00382-x>
- Shofinita, D., Harimawan, A., Almaishya, N., Dewi, A. M., Thamleonard, J., & Achmadi, A. B. (2025). Enhancing Viability of Probiotic by Microencapsulation: A Case Study in Ice Cream. *International Journal of Technology*, 16(4), 1337-1347. <https://doi.org/10.14716/ijtech.v16i4.6886>
- Szabo, K., Teleky, B. E., Mitrea, L., Călinoiu, L. F., Martău, G. A., Simon, E., ... & Vodnar, D. C. (2020). Active packaging—poly (vinyl alcohol) films enriched with tomato by-products extract. *Coatings*, 10(2), 141. <https://doi.org/10.3390/coatings10020141>
- Thinkohkaew, K., Jonjaroen, V., Niamsiri, N., McClements, D. J., Panya, A., Suppavorasatit, I., & Potiyaraj, P. (2025). Fabrication of synbiotic carbohydrate polymer-based microcapsules: Effect of prebiotics on probiotic viability during freeze-drying, gastrointestinal transit and storage. *Carbohydrate Polymers*, 359, 123582. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2025.123582>
- Wani, K. M., & Uppaluri, R. V. (2023). Characterization of pectin extracted from pomelo peel using pulsed ultrasound assisted extraction and acidic hot water extraction process. *Applied Food Research*, 3(2), 100345. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2023.100345>

- Xiao, Z., Xia, J., Zhao, Q., Niu, Y., & Zhao, D. (2022). Maltodextrin as wall material for microcapsules: A review. *Carbohydrate polymers*, 298, 120113. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.120113>
- Yao, M., Xie, J., Du, H., McClements, D. J., Xiao, H., & Li, L. (2020). Progress in microencapsulation of probiotics: A review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 19(2), 857-874. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12532>
- Yeung, Y. K., Kang, Y. R., & Chang, Y. H. (2024). Synbiotic encapsulation with Maillard reaction product and okra Pectic oligosaccharide to enhance the survival of *Lactiplantibacillus Plantarum*. *Food and Bioprocess Technology*, 17(2), 409-423. <https://doi.org/10.1007/s11947-023-03141-x>
- Yin, M., Chen, M., Yuan, Y., Liu, F., & Zhong, F. (2024). Encapsulation of *Lactobacillus rhamnosus* GG in whey protein isolate-shortening oil and gum Arabic by complex coacervation: Enhanced the viability of probiotics during spray drying and storage. *Food Hydrocolloids*, 146, 109252. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109252>
- Zhang, Z., Kobata, K., Pham, H., Kos, D., Tan, Y., Lu, J., & McClements, D. J. (2022). Production of plant-based seafood: Scallop analogs formed by enzymatic gelation of pea protein-pectin mixtures. *Foods*, 11(6), 851. <https://doi.org/10.3390/foods11060851>
- Zhou, X., Feng, X., Qi, W., Zhang, J., & Chen, L. (2024). Microencapsulation of vitamin E by gelatin-high/low methoxy pectin complex coacervates: Effect of pH, pectin type, and protein/polysaccharide ratio. *Food Hydrocolloids*, 151, 109794. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.109794>