

## INFLUÊNCIA DA $\alpha$ -CICLODEXTRINA NA MICROENCAPSULAÇÃO E LIOFILIZAÇÃO DE MICRORGANISMOS PROBIÓTICOS

Rafaela Battaglini Santaella (PIBIC/CNPq), Izabela da Silva Rodrigues (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Raquel Guttierrez Gomes, e-mail: [rggomes@uem.br](mailto:rggomes@uem.br), Rita de Cássia Bergamasco(Orientador), e-mail: [rbergamasco@uem.br](mailto:rbergamasco@uem.br).

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Tecnologia / Maringá, PR.

**Área: Ciências de alimentos. Subárea: Engenharia de alimentos.**

**Palavras-chave:**  $\alpha$ -ciclodextrina, microencapsulação, liofilização

### Resumo

Nos dias atuais há uma procura cada vez maior para alimentos que tragam benefícios à saúde, como alimentos que contenham microrganismos probióticos. No entanto, os microrganismos probióticos são muito sensíveis e isso afeta a viabilidade dos probióticos no alimento e, conseqüentemente, afeta a sobrevivência e multiplicação no trato digestivo. Para contornar este problema, a microencapsulação do microrganismo por meio da técnica de extrusão e secagem por liofilização pode ser uma alternativa. O trabalho proposto avaliou a influência da  $\alpha$ -ciclodextrina na microencapsulação e liofilização de microrganismos probióticos, além de analisar a viabilidade e a estabilidade durante estocagem a  $-6^{\circ}\text{C}$ . Os resultados mostraram que a  $\alpha$ -CD influencia na microencapsulação e secagem das microcápsulas, e também age como um prebiótico durante a estocagem das microcápsulas, atuando na manutenção da viabilidade dos microrganismos durante a estocagem a  $-6^{\circ}\text{C}$ .

### Introdução

O conceito do termo probiótico sofreu algumas modificações nos últimos anos, e atualmente os probióticos são definidos como microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (FAO, 2002). Atualmente, a recomendação é com base na porção diária de microrganismos viáveis que devem ser ingeridos, sendo o mínimo estipulado de  $10^8$  a  $10^9$  UFC.dia<sup>-1</sup>, segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2007 apud KOMATSU et al.,2008).

Para prevenir fatores intrínsecos e extrínsecos que influenciam na sobrevivência dos probióticos em alimentos, durante o processamento e armazenamento, a microencapsulação, ou simplesmente método de encapsulamento, poderia ser uma alternativa (HALIM et al., 2017). Dentre as técnicas de microencapsulação de probióticos, a extrusão é a mais

popularmente empregada para a obtenção de micropartículas de microrganismos, por ser uma técnica simples e de baixo custo (ETCHEPARE et al., 2015).

Com relação a secagem das microcápsulas de probióticos, um método muito utilizado é a liofilização, já que mantém alta a viabilidade das células. A liofilização consiste em um processo industrial de secagem por congelamento e sublimação do gelo sob vácuo. Porém, o congelamento provoca um estresse físico nas partículas, sendo necessária a adição de crioprotetores antes da liofilização, os quais conferem proteção durante o congelamento das amostras (HALIM et al., 2017). A  $\alpha$ -CD, como todo prebiótico, não é digerida no trato gastro intestinal superior, o que a torna disponível, e com fonte de carbono, para bactérias benéficas ao cólon, como a *bifidobactéria* (PRANCKUTĚ et al., 2014).

Diante do exposto acima, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da  $\alpha$ -CD nos microrganismos probióticos microencapsulados pela técnica de extrusão, e secos por liofilização.

## Materiais e métodos

### *Microencapsulação e secagem por liofilização*

A microencapsulação foi executada por meio da técnica de extrusão, de acordo com metodologia descrita por Halim et al. (2017). Foi preparada uma solução de alginato de sódio (2%) e  $\alpha$ -ciclodextrina (0,5% e 1%), e misturada com uma suspensão de microrganismos probióticos do gênero *Bifidobacterium bifdeu* 12 (Cr. Hansen) (1,5%). Esta solução foi extrusada, por meio de uma seringa, em uma solução de cloreto de cálcio (0,5 M), para que ocorresse a formação das microcápsulas. Após a extrusão, as microcápsulas foram deixadas em repouso por 40 minutos, e então lavadas com água destilada. Em seguida, as microcápsulas foram suspensas em uma solução de quitosana (4%), que atuou como uma cobertura das amostras. Posteriormente, as microcápsulas foram novamente lavadas com água destilada, suspensas em água peptonada, e então congeladas com nitrogênio líquido e liofilizadas em liofilizador de escala laboratorial (Alpha 1-LSC 4, Cristo, Alemanha), operando a  $-20^{\circ}\text{C}$ , por 24h. O produto seco foi coletado em um recipiente estéril e estocado para posterior enumeração dos microrganismos probióticos.

As formulações foram assim nomeadas:

F1: formulação controle contendo somente microrganismos probióticos suspensos em água peptonada

F2: microcápsulas sem  $\alpha$ -ciclodextrina, suspensas em água peptonada

F3: microcápsulas com  $\alpha$ -ciclodextrina (0,5%), suspensas em água peptonada

F4: microcápsulas com  $\alpha$ -ciclodextrina (1%), suspensas em água peptonada.

### *Enumeração de microrganismos probióticos*

Para a contagem dos microrganismos nas microcápsulas, as amostras foram diluídas em tampão fosfato (0,1 M) e seriadas em tubos. Em seguida, foram semeadas em placas de Petri, contendo meio MRS agar bifidum (meio de cultura específico), por meio da técnica de semeadura por profundidade. Consequente, as placas foram incubadas invertidas em jarras contendo gerador de anaerobiose Anaerobac (Probac) a 37°C/48 horas.

### *Estabilidade de estocagem*

As microcápsulas foram armazenadas por um período de 45 dias, a uma temperatura de -6°C, e após este período foi realizada uma nova enumeração de microrganismos probióticos.

## **Resultados e Discussão**

O primeiro experimento foi realizado com o objetivo de se obter a melhor concentração de  $\alpha$ -CD usada na microencapsulação e estocagem de microrganismos probióticos. Os resultados da viabilidade dos microrganismos probióticos antes e após a liofilização, e a estocagem a -6°C, durante 45 dias, são apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1-** Enumeração de microrganismos probióticos, em função da concentração de  $\alpha$ -CD, antes e após a liofilização, e a estocagem a -6°C.

Formulação	Inicial (UFC/mL)	Após a liofilização (UFC/mL)	Eficiência na secagem (%)	Após a estocagem a -6°C (UFC/mL)	Viabilidade de estocagem (%)
F1	Incontável	$5,05 \cdot 10^7$	-	0	-
F2	$2,27 \cdot 10^8$	$6,17 \cdot 10^7$	93,22	$1,78 \cdot 10^8$	100,90
F3	$14,52 \cdot 10^8$	$2,03 \cdot 10^8$	90,67	$1,76 \cdot 10^8$	99,25
F4	$8,03 \cdot 10^7$	$7,8 \cdot 10^7$	99,84	$1,52 \cdot 10^8$	103,67

A partir dos resultados foi possível observar que após a microencapsulação e liofilização do probiótico as formulações F1 e F2 apresentaram redução de logs da enumeração de microrganismos, enquanto as formulações F3 e F4 mantiveram a contagem de probióticos. Em termos de eficiência na secagem, observa-se que todas as formulações apresentaram uma alta eficiência de microrganismos viáveis após a liofilização (>90%), e o melhor resultado foi obtido com a formulação contendo  $\alpha$ -CD a 1%.

Em relação a estabilidade de estocagem, observa-se que houve um aumento de logs nas formulações F2 e F4, enquanto que a formulação F3 manteve a contagem. Este resultado mostra que a  $\alpha$ -CD, atua na manutenção da viabilidade dos microrganismos durante a estocagem. Na concentração de 1% (F4) houve um aumento de microrganismos viáveis, demonstrando que a  $\alpha$ -CD age como um prebiótico, contribuindo para a proliferação do microrganismo durante a estocagem.

Com relação a concentração de  $\alpha$ -ciclodextrina utilizada, observou-se um aumento na contagem de microrganismos para a formulação F4, com maior concentração de ciclodextrina.

A formulação F1, que continha somente microrganismo probiótico e água peptonada (sem haver nenhuma proteção), não apresentou contagem após a estocagem, confirmando a hipótese de que o microrganismo não sobrevive a baixas temperaturas, quando estocado por um certo período de tempo.

## Conclusões

É possível concluir com este trabalho que a  $\alpha$ -ciclodextrina ( $\alpha$ -CD) influencia na microencapsulação e estocagem de microrganismos probióticos, atuando como um prebiótico, e contribuindo para a proliferação do microrganismo durante a estocagem. A formulação contendo 1 %  $\alpha$ -ciclodextrina apresentou maior estabilidade de processamento e também de estocagem.

## Agradecimentos

Agradecimentos à UEM, CNPq e Fundação Araucária pela oportunidade de realizar este estudo.

## Referências

ETCHEPARE, M.A., BARRETO, A.R., CAVALHEIRO, C.P., & de MENEZES, C. R. (2015). Microencapsulação de probióticos pelo método de extrusão associado a interações eletrostáticas. *Ciência e Natura*, 37(5), 75-86.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. London, Ontario, Canada. April 30 and May 1, 2002.

HALIM, M., MUSTAFA, N. A. M., OTHMAN, M., WASOH, H., KAPRI, M. R., & ARIFF, A. B. (2017). Effect of encapsulant and cryoprotectant on the viability of probiotic *Pedococcus acidilactici* ATCC 8042 during freeze-drying and exposure to high acidity, bile salts and heat. *LWT-Food Science and Technology*, 81, 210-216.

KOMATSU, T. R., BURITI, F. C. A., & SAAD, S. M. I. (2008). Inovação, persistência e criatividade superando barreiras no desenvolvimento de alimentos probióticos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 44(3), 329-347.

PRANCKUTE, R., KAUNIETIS, A., KUISIENE, N., & CITAVICIUS, D. (2014). Development of synbiotics with inulin, palatinose,  $\alpha$ -ciclodextrin and probiotic bacteria. *Pol J Microbiol*, 63(1), 33-41.