

## DESENVOLVIMENTO DE MICROCÁPSULAS DE MICRORGANISMOS PROBIÓTICOS, CONTENDO CICLODEXTRINAS, E COM POTENCIAL APLICAÇÃO EM IOGURTE

Izabela da Silva Rodrigues (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Rafaela Battaglini Santaella (PIBIC/CNPq), Raquel Gutierrez 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:** probiótico, microencapsulação, ciclodextrinas.

### Resumo

A aplicação de bactérias probióticas em alimentos de modo a conferir efeito benéfico a saúde do consumidor, se administrado em quantidades adequadas, caracteriza como um alimento funcional, mercado que cresce cada vez mais devido a procura por alimentos mais saudáveis. Em consequência da sensibilidade dos microrganismos a condições ambientais e ao processamento, tecnologias são adotadas para aumentar sua viabilidade, como por exemplo a microencapsulação utilizando diferentes combinações de agentes encapsulantes. O presente trabalho teve como objetivo desenvolver microcápsulas de microrganismos probióticos, do gênero *Bifidobacterium*, e contendo ciclodextrinas, visando aplicação em iogurte. Foi utilizada a técnica de microencapsulação por extrusão e secagem por liofilização, aplicando ciclodextrinas ( $\alpha$ -CD e  $\beta$ -CD) na formulação. Os resultados mostraram que a  $\alpha$ -CD atuou como um prebiótico, na manutenção dos microrganismos durante a estocagem a  $-6^{\circ}\text{C}$ , por 30 dias. Enquanto que a  $\beta$ -CD agiu como um crioprotetor do probiótico durante a secagem por liofilização. De um modo geral, os resultados são satisfatórios quando aplicando ciclodextrinas na microencapsulação de microrganismos probióticos, atuando na estabilidade e viabilidade dos probióticos, apresentando potencial aplicação em iogurte.

### Introdução

A constante busca por alimentos como fontes de bem-estar e saúde intensificou a pesquisa de alimentos funcionais. Estes alimentos apresentam funções nutricionais como fonte de energia e de substrato para a formação de células e tecidos, além de possuir em sua composição uma ou mais substâncias que atuam modulando e ativando os processos metabólicos, melhorando as condições de saúde pelo aumento da efetividade do sistema imune, promovendo o bem-estar das pessoas e prevenindo o aparecimento

precoce de alterações patológicas e de doenças degenerativas, que levam a uma diminuição da longevidade (SGARBIERI et al., 1999).

Buscando satisfazer o novo mercado de alimentos funcionais, bactérias probióticas vêm sendo incorporadas em uma grande variedade de alimentos, entre eles, o iogurte. Probióticos são microrganismos vivos que, quando administrado em quantidades adequadas conferem algum benefício à saúde do consumidor. As bactérias do gênero *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são as mais utilizadas como probióticos (GOMES et al., 1999).

Considerando que a maioria dos probióticos são muito sensíveis a condições ambientais e ao processamento, como temperatura e secagem, busca-se por tecnologias alternativas para que o microrganismo tenha resistência às operações de processamento e mantenha sua viabilidade durante o período de estocagem do produto. A microencapsulação por extrusão é um processo no qual as células são retidas dentro de uma matriz ou membrana encapsulante e extrusadas gota a gota, por meio de uma seringa, em uma solução de cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ) (ANAL; SINGH, 2007).

Além disso, a secagem por liofilização é considerada um processo menos agressivo para os probióticos, visto que utiliza de baixas temperaturas, aumentando o número de células viáveis (HALIM et al., 2017). A utilização de crioprotetores, como as ciclodextrinas, são uma alternativa para aumentar a viabilidade dos microrganismos probióticos durante o processo de liofilização, visto que possuem capacidade de aprisionar e proteger compostos de condições adversas, impedindo a perda da viabilidade bacteriana (ALBERTINI et al. 2010).

Diante disso, o presente trabalho tem como objetivo desenvolver microcápsulas de microrganismos probióticos, do gênero *Bifidobacterium*, e contendo ciclodextrinas, visando aplicação em iogurte.

## Materiais e métodos

A microencapsulação dos microrganismos probióticos do gênero *Bifidobacterium bifidus* 12 (Cr. Hansen) foi realizada pela técnica de extrusão, seguida da secagem por liofilização. Ciclodextrinas foram utilizadas no preparo das microcápsulas de modo a aumentar a viabilidade dos microrganismos durante a secagem e estocagem das microcápsulas.

Uma suspensão de microrganismos (1,5%) foi misturada com uma solução de alginato de sódio (2%) e  $\alpha$ -ciclodextrina (1%). Esta solução foi extrusada, uma seringa estéril, em uma solução de cloreto de sódio (0,1 M) sob agitação. As microcápsulas formadas foram filtradas e 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 filtradas e imersas em solução de  $\beta$ -ciclodextrina (0,5%) por uma hora, seguida da suspensão em água peptonada e posterior congelamento com nitrogênio líquido e secagem por liofilização em um liofilizador de escala laboratorial (Alpha 1- LSC 4, Cristo, Alemanha), operando a  $-20^\circ\text{C}$ .

As formulações elaboradas foram:

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

F2: microcápsulas com  $\alpha$ -ciclodextrina (1%), suspensas em água peptonada

F3: microcápsulas imersas em solução de  $\beta$ -ciclodextrina (0,5%), seguida da suspensão em água peptonada

F4: microcápsulas com  $\alpha$ -ciclodextrina (1%), imersas em solução de  $\beta$ -ciclodextrina (0,5%), seguida da suspensão em água peptonada.

Para a contagem dos microrganismos probióticos microencapsulados, as amostras foram diluídas em solução tampão fosfato (0,1 M) e seriadas em tubos. Logo após, as amostras foram semeadas em placas de Petri e cultivadas em meio de cultura específico (MRS agar bifidum). Posteriormente, as placas foram incubadas invertidas em jarras com gerador de anaerobiose Anaerobac (Probac) a 36º/48h. Esta análise foi realizada nas microcápsulas antes e depois da liofilização, e após 30 dias de estocagem em freezer, à -6ºC.

## Resultados e Discussão

A Tabela 1 apresenta os resultados da contagem de microrganismos probióticos das amostras de microcápsulas nos períodos antes e depois da liofilização, e 30 dias de armazenamento.

**Tabela 1** - Enumeração de microrganismos probióticos nas microcápsulas antes e após a liofilização, e a estocagem a -6ºC

Formulação	Inicial (UFC/g)	Enumeração após a liofilização (UFC/g)	Eficiência na secagem (%)	Enumeração após a estocagem (UFC/g)	Eficiência na estocagem (%)
F1	$1,88 \times 10^{11}$	incontável	-	$6,81 \times 10^{10}$	-
F2	$8,79 \times 10^{10}$	$3,10 \times 10^{10}$	95,86	$4,12 \times 10^{10}$	101,17
F3	$4,64 \times 10^{10}$	$5,98 \times 10^{11}$	110,42	$3,83 \times 10^8$	72,87
F4	$5,26 \times 10^{10}$	$2,24 \times 10^{11}$	105,87	$9,00 \times 10^9$	87,69

Observa-se na Tabela 1 que após a microencapsulação e liofilização do probiótico as formulações 3 e 4 apresentaram aumento de logs da enumeração de microrganismos, enquanto a formulação 2 se manteve constante. Este fato pode estar relacionado com a  $\beta$ -ciclodextrina utilizada no preparo das microcápsulas, que pode ter atuado como um crioprotetor dos microrganismos durante a secagem em baixa temperatura. O resultado também pode ser visualizado na eficiência de secagem, em que o maior teor de microrganismos viáveis, após a liofilização, foi para a formulação F3, contendo  $\beta$ -CD, e o menor resultado foi observado na formulação F2,  $\alpha$ -CD. No estudo da estabilidade de estocagem, que foi efetuada 30 dias após a liofilização, a formulação 2 manteve uma constância em relação ao número de logs, e as formulações 3 e 4 apresentaram uma redução de logs. No

cálculo da eficiência de microrganismos viáveis, observa-se um aumento na viabilidade de probióticos para a formulação F2, composta de  $\alpha$ -ciclodextrina, demonstrando que esta ciclodextrina age como um prebiótico, ou seja, auxilia na manutenção do microrganismo durante a estocagem. A formulação F3, que não continha  $\alpha$ -CD, apresentou redução na viabilidade de microrganismos.

De um modo geral, a formulação F2 se mostra promissora para aplicação em iogurte, visto que, atua na manutenção do microrganismo durante a estocagem a baixa temperatura, apesar de apresentar redução na contagem de probióticos durante a secagem; contudo o resultado é satisfatório (>95%).

## Conclusões

A partir dos resultados obtidos, foi possível concluir que a microencapsulação e a secagem por liofilização, utilizando ciclodextrinas, apresentaram efeitos benéficos na estabilidade e viabilidade dos probióticos. A formulação contendo somente  $\alpha$ -ciclodextrina se mostrou promissora para aplicação em iogurte.

## Agradecimentos

Agradecimentos à Universidade Estadual de Maringá, ao CNPq e à Fundação Araucária pela oportunidade de realizar este estudo.

## Referências

ALBERTINI, B.; VITALI, B.; PASSERINI, N.; CRUCIANI, F.; DI SABATINO, M.; RODRIGUEZ, L.; BRIGIDI, P. Development of microparticulate systems for intestinal delivery of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis*. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 40, p. 359-366, 2010.

ANAL, A., SINGH, H. Recent advances in microencapsulation of probiotic for industrial applications and targeted delivery. **Food Science & Technology**, v. 18, n. 5, p. 240-251, 2007.

GOMES, A. M. P.; MALCATA, F. X. Agentes Probióticos em Alimentos: Aspectos Fisiológicos e Terapêuticos, e Aplicações Tecnológicas. **Boletim de Biotecnologia**, n. 64, p. 12-22, 1999.

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

SGARBIERI, V. C., PACHECO, M. T. B. Revisão: Alimentos funcionais fisiológicos. **Brazilian Journal of Food Technology**, n. 2, p. 7-19, 1999.