

VIABILIDADE DE *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS* MICROENCAPSULADO ADICIONADO A IOGURTE BATIDO SABORIZADO COM POLPA DE MIRTILO (*VACCINIUM spp*)

ELIANE LEMKE FIGUEIREDO¹; JÚLIA BORIN FIORAVANTE²; PATRÍCIA DIAZ DE OLIVEIRA³; CLAIRE TONDO VENDRUSCOLO⁴; ANGELITA DA SILVEIRA MOREIRA⁵

¹ Universidade Federal de Pelotas – elianelemke@outlook.com

² Universidade Federal de Pelotas – juliabfioravante@hotmail.com

³ Universidade Federal de Pelotas – angelitadasilveiramoreira@gmail.com

⁴ Universidade Federal de Pelotas – clairevendruscolo@gmail.com

⁵ Universidade Federal de Pelotas – bilicadiaz@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

O iogurte pertence ao grupo de produtos denominados leites fermentados, que são produtos lácteos obtidos por coagulação e diminuição do pH do leite, por fermentação láctica mediante ação de cultivos de microrganismos específicos, adicionado ou não de outros produtos lácteos e de outras substâncias alimentícias. No iogurte, a fermentação é realizada através de cultivos protosimbióticos de *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, os quais devem ser viáveis, ativos e abundantes durante o prazo de validade do produto. Iogurtes podem variar quanto à sua composição química, método de produção, sabor e consistência, pode ser firme, batido ou líquido (BRASIL, 2007). Os iogurtes são os principais meios utilizados de veiculação de microrganismos probióticos, devido à grande aceitação pelo público consumidor. No entanto, esse tipo de produto é propício à fenômenos como a pós-acidificação, que causa a perda da viabilidade dos probióticos, visto que em pH abaixo de 4,4 esses não se desenvolvem muito bem, podendo ter sua população consideravelmente reduzida. Ainda, outra barreira que eles enfrentam é o trato gastrointestinal (TGI), visto que devem resistir ao suco gástrico, à bile e à secreção pancreática (RIBEIRO et al., 2011). Logo, torna-se tecnologicamente interessante o desenvolvimento de técnicas que protejam esses microrganismos contra as condições adversas, garantindo sua sobrevivência.

Uma tecnologia que vem ganhando destaque é a microencapsulação, na qual as microcápsulas são dissolvidas e liberam o material encapsulado no sítio de ação adequado para exercer a função desejada (BORGOGNA et al., 2010). A microencapsulação pela técnica de *spray drying* é economicamente viável por ser um processo contínuo, porém apresenta acentuada perda de viabilidade dos microrganismos resultante da temperatura de processo e da desidratação. No entanto, com a finalidade de se eliminar estes inconvenientes, pode-se utilizar polímeros para a proteção desses (SIMEONI, 2014). A xantana pode ser utilizada como agente termo-osmoprotetor e encapsulante, conferindo resistência às condições gastrointestinais que as microcápsulas sofrem durante o processo digestivo. E o aerosil®, uma sílica pirogênica, atua como adjuvante de secagem antiagregante, proporcionando boa estabilidade física, mantendo o aspecto da microcápsula de pó fino e solto além de conferir maior rendimento ao processo.

Mirtilo é uma pequena fruta sazonal que vem ganhando destaque. Como saborizante e corante de iogurte é bastante adequado, pois substitui, com vantagens por seu apelo de saudabilidade, corantes e aromatizantes artificiais, valorizando o produto. Porém, é ácido, o que pode diminuir ainda mais o pH do iogurte e, portanto, reduzir a população probiótica. Assim, objetivou-se avaliar a

viabilidade, ao longo do tempo, de *Lactocillus acidophilus* microencapsulado com xantana em iogurte batido saborizado com polpa de mirtilo.

2. METODOLOGIA

2.1 Obtenção da polpa de mirtilo

A polpa de mirtilo foi obtida conforme descrito por Fioravante (2015), através da aplicação direta de vapor em caldeira térmica, contendo 0,1% (m/m) de xantana pruni, 0,08% (m/m) de ácido cítrico e 14ºBrix.

2.2 Encapsulação do probiótico *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356

Solução encapsulante (500 mL) foi preparada com 1,25% (m/v) de xantana pruni e 0,19% (m/v) de aerosil® em água destilada, sob aquecimento de 60 °C e homogeneização em agitador mecânico, sendo esterilizada a 121 °C por 15 min.

Obteve-se o inóculo de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 a partir da suspensão, em 500 mL de meio líquido MRS, das células frescas de 10 placas de *L. acidophilus* incubadas a 37 °C por 72 h. O inóculo foi preparado em agitador orbital a 150 rpm, 37°C por 24 h (SILVA et al., 2014). Concentrado celular foi obtido por centrifugação a 10000 xg e 4 °C por 10 min e posteriormente diluído na solução encapsulante até atingir DO₆₀₀ de 1,0. As microcápsulas foram obtidas em *spray dryer* (LabMaq MSD 1.0), operado com as seguintes condições: temperatura de entrada 120 °C, temperatura de saída 60 °C, com taxa de fluxo de ar de 3 L/h e velocidade de entrada de 0.4 L/h. O pó produzido foi armazenado em frascos de vidro e acondicionados sob refrigeração a 4 °C.

2.3 Produção do iogurte

O iogurte foi elaborado conforme metodologia descrita por Krolow e Ribeiro (2006), com modificações, sendo: 1 L de leite, 4% de leite em pó desnatado, 11% de açúcar refinado. Primeiramente, o leite foi misturado ao leite em pó e ao açúcar e pasteurizado à temperatura de 90 °C por 30 min, resfriando-se posteriormente a mistura a 40-45 °C. Após, dividiu-se em 2 porções, onde foram submetidos aos seguintes tratamentos: 1) 2% de cultura láctica (*Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*) e *Lactobacillus acidophilus* livre; 2) 2% de cultura láctica (*Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*). Estes foram agitados e incubados em estufa a 37 °C por 16 h. Após, bateu-se lentamente, separando-se ambos tratamentos em duas porções, sendo adicionados de 25% de polpa de mirtilo (tratamentos T1 e T3) e 20% de microcápsula (tratamentos T3 e T4), como apresenta a Tabela 1; finalmente, foram armazenados em frascos de vidro em refrigerador a 4 °C.

Tabela 1: Ingredientes de cada um dos quatro tratamentos realizados

Tratamentos	Ingredientes		
	<i>L. acidophilus</i> livre	<i>L. acidophilus</i> microencapsulado	Polpa de mirtilo
T1	Sim	Não	Sim
T2	Sim	Não	Não
T3	Não	Sim	Sim
T4	Não	Sim	Não

A viabilidade do *L. acidophilus* foi avaliada no 4º, 7º, 14º e 28º dia de armazenamento, através de diluição e contagem em meio seletivo-MRS para *Lactobacillus spp.* A análise foi realizada em triplicata.

2.4 Análise estatística

Para comparação das médias foi aplicado o teste de Tukey ao nível de significância de 5%, utilizando-se o programa estatístico Statistix 8.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Segundo os resultados (Tabela 2), os tratamentos e o tempo de armazenamento afetaram significativamente a viabilidade do *L. acidophilus*. A concentração de células viáveis dos iogurtes com o *L. acidophilus* microencapsulado (T3 e T4) mantiveram-se constantes no mesmo log durante o período de armazenamento, não havendo diferenças em relação a adição da polpa de mirtilo. No entanto, percebe-se que o iogurte com polpa de mirtilo (T3), apresentou contagens menores de *L. acidophilus* em todos os tempos analisados, o que indica que a adição de polpa interferiu na viabilidade do microrganismo mesmo microencapsulado. Já o T1 e T2, com células livres, não continham células viáveis no 28º dia. Observou-se em T2 decréscimo de 2 log a partir do 7º dia, enquanto que no T1, embora com menor concentração que T2 já no 4º dia, observou-se diminuição de 1 log no 14º dia. Tal redução de viabilidade dos microrganismos é um comportamento típico durante o tempo de armazenamento do iogurte ocorrendo, principalmente, pela pós-acidificação do produto.

A manutenção da viabilidade celular é desejada sendo, inclusive, estabelecida pela legislação que a contagem total de bactérias lácticas viáveis deve ser no mínimo de 10^7 UFC/g durante o período de validade (BRASIL, 2007). Já para o iogurte ser considerado probiótico, essa quantidade aumenta para faixas de 10^8 a 10^9 UFC na porção diária de 200 g recomendada. Desta forma, pode-se perceber que os iogurtes batidos do T3 e T4 com 10^7 UFC/g podem ser considerados alimentos probióticos (BRASIL, 2003).

Tabela 2: Viabilidade (UFC/g) de *L. acidophilus* em iogurte batido com e sem polpa de mirtilo ao longo de 28 dias de armazenamento a 4 °C

Tratamento	Período de armazenamento (dias)			
	4º	7º	14º	28º
T1	$2,2 \times 10^{3c}$	$5,84 \times 10^{4c}$	4×10^{2c}	0
T2	$5,12 \times 10^{5c}$	$2,2 \times 10^{3c}$	2×10^{3c}	0
T3	$2,63 \times 10^{7b}$	$2,95 \times 10^{7b}$	$2,86 \times 10^{7b}$	$3,86 \times 10^{7b}$
T4	$4,11 \times 10^{7a}$	$3,53 \times 10^{7a}$	$3,25 \times 10^{7a}$	$6,26 \times 10^{7a}$

*T1: Tratamento com *L. acidophilus* livre com adição de polpa; *T2: Tratamento com *L. acidophilus* livre sem adição de polpa; *T3: Tratamento com *L. acidophilus* microencapsulado com adição de polpa; *T4: Tratamento com *L. acidophilus* microencapsulado sem adição de polpa; Médias de três repetições. Letras minúsculas diferentes na coluna indicam diferença entre as formulações pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Ribeiro (2011) avaliou a viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* livre e microencapsulado em iogurte probiótico batido e verificou que o iogurte com *L. acidophilus* em microcápsulas úmidas teve menor redução da viabilidade, durante 35 dias de armazenamento, do que em microcápsulas liofilizadas e na forma livre.

4. CONCLUSÕES

A adição de polpa de mirtilo aos iogurtes causou redução numérica significativa na contagem de *L. acidophilus*. Quando esse probiótico foi adicionado microencapsulado não sofreu redução (em número de log) de sua viabilidade ao longo dos 28 dias de armazenamento refrigerado, mesmo no iogurte adicionado de polpa de mirtilo. Assim, a microencapsulação de microrganismos com xantana pruni se mostrou uma técnica promissora e vantajosa, sendo viável sua aplicação em iogurtes probióticos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRASIL - Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução RDC nº 359, de 23 de dezembro de 2003. Regulamento Técnico de Porções de Alimentos Embalados para Fins de Rotulagem Nutricional. Publicado no **Diário Oficial da União**: Brasília, Distrito Federal, em 26 de dezembro de 2003.
- BRASIL - Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA. Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007, que adota o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. Publicado no **Diário Oficial da União**: Brasília, Distrito Federal, em 24 de outubro de 2007. Seção 1, página 5. 2007.
- BORGOGNA, M.; BELLICH, B.; ZORZIN, L.; LAPASIN, R.; CESÁRO, A. Food microencapsulation of bioactive compounds: rheological and thermal characterisation of non-conventional gelling system. **Food Chemistry**, v. 122, n. 2, p. 416–423, 2010.
- FIORAVANTE, Júlia Borin. **TRATAMENTO TÉRMICO POR ADIÇÃO DIRETA DE VAPOR E DE XANTANA PRUNI COMO ESTRATÉGIA PARA PRESERVAÇÃO DE POLIFENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM POLPA E PRÉ-MIX DE MIRTILO**. 2015. 104 f. Dissertação (mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2015.
- KROLOW, A. C. R.; RIBEIRO, M. E. R. Obtenção de leite com qualidade e elaboração de derivados. **Embrapa Clima Temperado**, Pelotas, RS, jul. 2006.
- RIBEIRO, Maria Cecília Enes. **Produção e caracterização de iogurte probiótico batido adicionado de Lactobacillus acidophilus livre e encapsulado**. 2011. 75 f. Dissertação (mestrado em tecnologia de alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.
- SILVA, Pablo Teixeira da et al. Microencapsulação de probióticos por spray drying: avaliação da sobrevivência sob condições gastrointestinais simuladas e da viabilidade sob diferentes temperaturas de armazenamento. 2014. **Revista Ciência Rural**. Santa Maria/RS. ISSN 0103-8478. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cr/2015nahead/1678-4596-cr-03_8478cr20140211.pdf>. Acesso em: 11 mar. 17.
- SIMEONI, Caroline Posser. Microencapsulação de probióticos: inovação tecnológica na indústria de alimentos. **Electronic Journal of Management, Education and Environmental Technology (REGET)**, v. 18, p. 66-75, 2014.