



VIABILIDADE DE MICROCÁPSULA PROBIÓTICA EM DIFERENTES TEMPERATURAS DE ARMAZENAMENTO

MICHELE DUTRA ROSOLEN¹; FERNANDA WEBER BORDIN²; GABRIELA DA LUZ³; PATRÍCIA DIAZ⁴; ÂNGELA MARIA FIORENTINI⁵; SIMONE PIENIZ⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – michele.dutra@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – fernandawbordini@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – ql.gabi@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – bilica.diaz@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – angefiore@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – nutrisimone@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

O interesse na busca por micro-organismos de diferentes matrizes alimentares tem aumentado, em virtude do isolamento de novas espécies bacterianas com potencial para melhorar a palatabilidade, processabilidade e valor nutricional de uma ampla faixa de alimentos (MANINI et al., 2016). Dentre as espécies isoladas, destacam-se as bactérias ácido-láticas (BAL), as quais têm sido incorporadas em alimentos fermentados e, algumas delas com potencial probiótico (LINARES et al., 2017).

A alta susceptibilidade dos probióticos à desintegração significa que estratégias eficazes de encapsulamento são necessárias, para protegê-los das condições dos alimentos e durante o processo digestório superior, para em seguida serem liberados dentro do lúmen intestinal (YEUNG et al., 2016). Em virtude da baixa estabilidade e fácil degradação dos probióticos por fatores ambientais e de processamento, a técnica de microencapsulação surge como uma alternativa para a produção de microcápsulas com alta eficiência para aplicação em alimentos (GRANATO et al., 2019).

A microencapsulação utilizando a técnica de secagem por atomização é um dos processos mais utilizados na indústria, tendo em vista a alta reprodutibilidade e baixo custo. Esse método consiste na atomização de um líquido ou de uma suspensão na câmara de secagem, levando a formação de partículas secas ao final do processo (MARTÍN et al., 2015).

Com base no exposto acima, o presente estudo teve como objetivo produzir microcápsulas de *Pediococcus pentosaceus* P107 por *spray drying* utilizando como material encapsulante soro de queijo e pectina. Para isso, investigou-se estabilidade ao armazenamento e a morfologia das microcápsulas.

2. METODOLOGIA

2.1 Estirpe e condições de cultivo

Pediococcus pentosaceus P107 (*P. pentosaceus* P107) foi mantido com glicerol a -20 °C até o momento de uso, quando para otimizar do crescimento celular foi previamente cultivado em soro de queijo (Relat - Estação, RS, Brasil) reconstituído a 6%, o qual é pasteurizado a 65 °C por 30 min. O inóculo foi adicionado numa concentração de 3% para reativação em agitador orbital (CERTOMAT BS-1, Germany) à 37 °C, 180 rpm por 16 h, e após foi cultivado em biorreatore de bancada (BIOSTAT B -New Brunswick, EUA) à 37 °C e 100 rpm,



overnight a fim de atingir uma densidade celular alta. Sendo ambos cultivos sob anaerobiose. Ao final do processo de cultivo as células de *P. pentosaceus* P107 foram centrifugadas a 2370 g por 10 min a 4 °C e o pellet foi lavado em tampão fosfato-salino PBS (10 mM, pH 7,0).

2.2. Produção das microcápsulas

O material encapsulante utilizado foi soro de queijo associado a pectina e aerosil (SQ). Ambos materiais foram pasteurizados a 65 °C por 30 min. Após o preparo das solução encapsulante o pellet de *P. pentosaceus* P107 foi acrescentado e mantido sob agitação magnética até o momento no qual foram submetidas ao processo de secagem utilizando spray dryer (LabMaq – MSDi 1.0, São Paulo, SP, Brasil). Os parâmetros utilizados foram 100 °C de temperatura de entrada, 68 °C de temperatura de saída, com fluxo de alimentação de 0,25 L h⁻¹ e fluxo de ar de secagem 3,00 m 3 min⁻¹. O produto final seco foi coletado em frascos estéreis e armazenado em diferentes temperaturas. O processo de encapsulação e subsequentes análises foram realizadas em triplicata.

2.3 Morfologia da microcápsula

A morfologia das microcápsulas foi determinada em sete dias de armazenamento na temperatura de -20 °C. As amostras foram fixadas com uma fita de carbon dupla face, revestida com ouro por aspersão (Leica, modelo EM SCD 500, Wetzlar, Alemanha), visualizadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) Jeol, modelo JSM - 6610LV (Jeol, Tóquio, Japão) em modo de alto vácuo para examinar a morfologia da superfície e estimar seu tamanho.

2.4 Viabilidade das células livres e microencapsuladas de *Pediococcus pentosaceus* P107 ao armazenamento em diferentes temperaturas

A viabilidade das células livres e das microcápsulas contendo *P. pentosaceus* P107 foram realizadas durante 30 dias de armazenamento, em três diferentes temperaturas: -20 ± 1°C (congelamento), 4 ± 1 °C (refrigeração) e 25 ± 1 °C (ambiente). Para o rompimento das microcápsulas de SQ, 0,01 g de pó foi disperso em uma solução ácida contendo pepsina durante 30 min, conforme MEIRA et al. (2012) com modificações. Para a determinação das células livres de *P. pentosaceus* P107, 0,01 g do pó foi suspenso em 1 mL de água peptonada 0,15% (m.v⁻¹) estéril e homogeneizada em vórtex. A contagem das células viáveis foi determinada por diluição seriada em água peptonada 0,15% (m.v⁻¹) e alíquotas dessas diluições foram inoculadas em ágar MRS, incubadas a 37 °C por 48 h em anaerobiose e a concentração das células viáveis foi expressa log UFC g⁻¹.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 mostra as imagens de MEV das células livres e da microcápsula. A célula livre apresentou um tamanho médio de 2,98 ± 0,45 µm enquanto que a SQ o valor foi de 6,99 ± 0,67 µm. A microcápsula SQ possui um formato levemente arredondado, porém com algumas deformações em sua superfície, fato este que pode estar associado a interação do calor com a pectina durante o processo de atomização.

Os resultados do presente estudo quanto a morfologia e tamanho das microcápsulas, são relatadas na literatura como sendo adequadas para uso na indústria alimentícia, visto que não irão interferir nas características sensoriais dos alimentos produzidos (MARTÍN et al., 2015; RANADHEERA, EVANS, ADAMS, & BAINES, 2015).

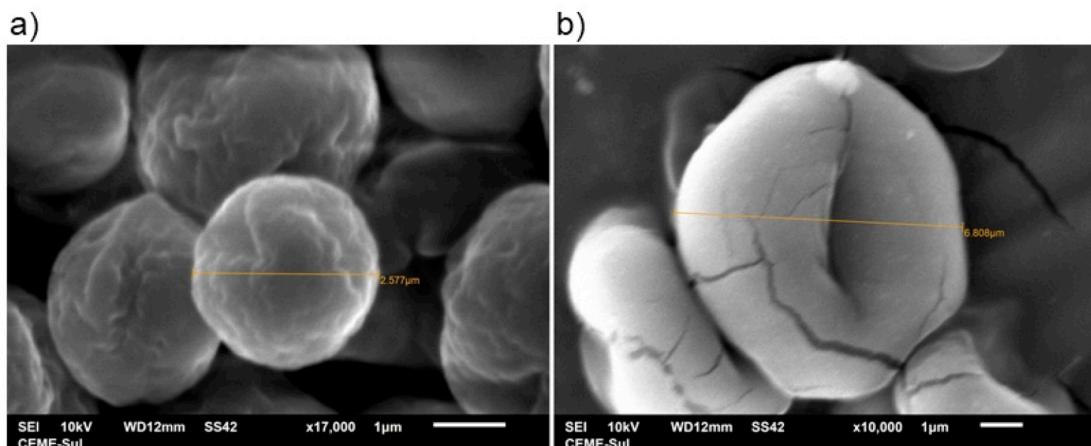


Figura 1. Microscopia eletrônica de varredura de *Pediococcus pentosaceus* P107 livre (a) e microencapsulado com soro e pectina (b).

Na Figura 2 estão apresentados os resultados referentes às células livres e microencapsuladas de *P. pentosaceus* P107 nas temperaturas de -20, 4 e 25 °C, durante 30 dias de armazenamento.

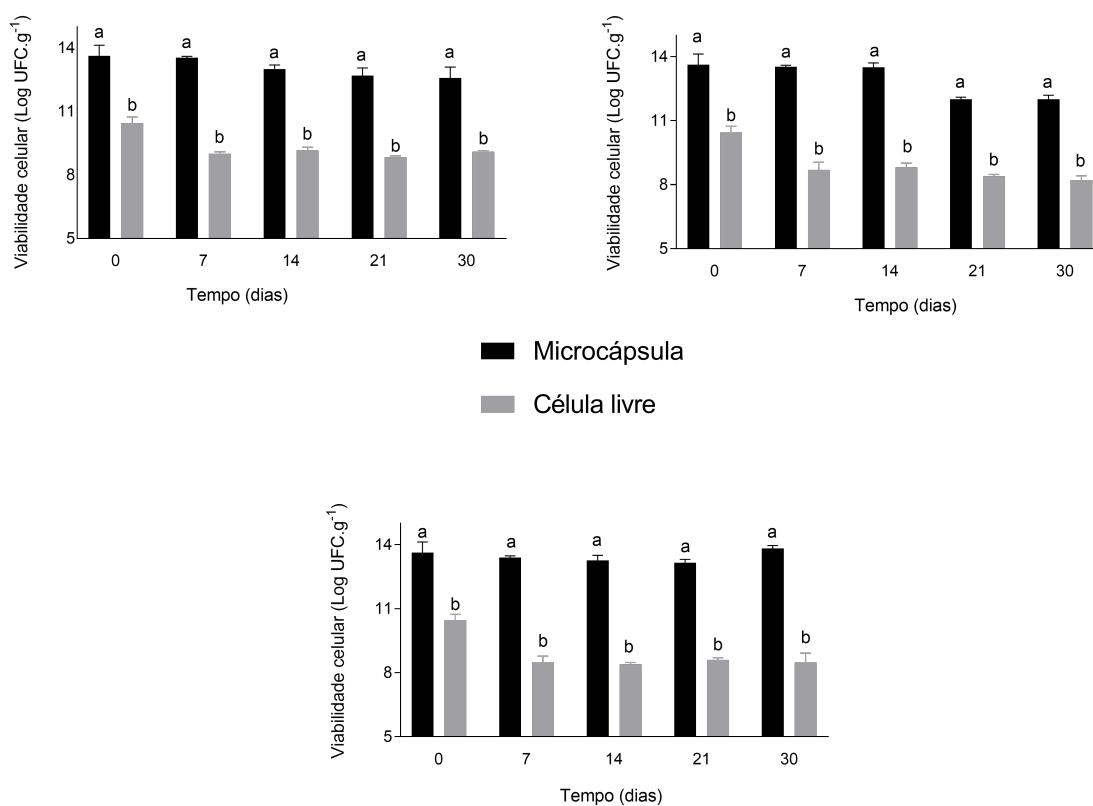


Figura 2. Viabilidade celular de *Pediococcus pentosaceus* P107 livre e microencapsulado armazenado a -20°C (a), 4°C (b) e 25°C (c). ^{a,b} Letras diferentes correspondem a diferença estatística ($p<0,05$) dentro do mesmo intervalo de tempo (dias).

A célula livre apresentou uma redução logarítmica de 1,36, 2,24 e 1,97 UFC. g⁻¹, respectivamente para as temperaturas de -20, 4 e 25 °C ao final dos 30 dias analisados. Essa redução pode estar relacionada às lesões celulares causadas



pela secagem no processo, o que resulta em morte celular (SANTIVARANGKNA, KULOZIK & FOERST, 2008).

Para a microcápsula a redução logarítmica para todas temperaturas variou de 0,42 a 1,63 UFC.g⁻¹, no entanto permaneceu com alta concentração celular ao final dos 30 dias analisados. Os resultados apresentados demonstram que probióticos microencapsulados apresentam viabilidade superior quando comparados com a célula livre (ROSOLEN et al., 2019).

No estudo de Oliveira et al. (2007) *Lactobacillus acidophilus* foi microencapsulado utilizando como materiais encapsulantes caseína e pectina associados. Os autores referem que assim como o presente estudo, os materiais utilizados foram efetivos na proteção celular ao armazenamento.

4. CONCLUSÕES

A microencapsulação de *P. pentosaceus* P107 garantiu a viabilidade celular por 30 dias de armazenamento nas três diferentes temperaturas, demonstrando potencial de aplicação na indústria de alimentos funcionais.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- MANINI, F. et al. Characterization of lactic acid bacteria isolated from wheat bran sourdough. **LWT - Food Science and Technology**, [s. l.], v. 66, p. 275–283, 2016.
- LINALES, D. M. et al. Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria with Potential to Design Natural Biofunctional Health-Promoting Dairy Foods. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 8, n. MAY, p. 1–11, 2017.
- YEUNG, T. W. et al. Microencapsulation of probiotics in hydrogel particles: Enhancing *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* LM0230 viability using calcium alginate beads. **Food and Function**, [s. l.], v. 7, n. 4, p. 1797–1804, 2016.
- MARTÍN, M. J. et al. Microencapsulation of bacteria: A review of different technologies and their impact on the probiotic effects. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [s. l.], v. 27, p. 15–25, 2015.
- MEIRA, S. M. M. et al. Probiotic potential of *Lactobacillus* spp. isolated from Brazilian regional ovine cheese. **Journal of Dairy Research**, [s. l.], v. 79, n. 1, p. 119–127, 2012.
- RANADHEERA, C. S. et al. Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 and *Propionibacterium jensenii* 702 by spray drying in goat's milk. **Small Ruminant Research**, 123(1), 155–159, 2015.
- SANTIVARANGKNA C. et al. Inactivation mechanisms of lactic acid starter cultures preserved by drying processes. **Journal of Applied Microbiology**, 105(1), 1–13, 2008.
- OLIVEIRA A. C. et al. Stability of microencapsulated *B. lactis*(BL 01) and *L. acidophilus*(LAC 4) by complex coacervation followed by spray drying. **Journal of Microencapsulation**, 24(7), 685–693, 2007.
- ROSOLEN, M. D et al. Symbiotic microencapsulation of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* R7 using whey and inulin by spray drying. **LWT - Food Science and Technology**, v. 115, p. 1-7, 2019.