

Foto: Janine Passos Lima da Silva



## Processo de Encapsulação de Microrganismos Probióticos para Aplicação em Bebida Não Láctea Não Fermentada

Janine Passos Lima da Silva<sup>1</sup>  
Renata Valeriano Tonon<sup>2</sup>  
Flávia dos Santos Gomes<sup>3</sup>  
Izabela Alves Gomes<sup>4</sup>  
Ana Paula de Oliveira Ribeiro<sup>5</sup>  
Sérgio Macedo Pontes<sup>6</sup>  
Ana Carla Kawazoe Sato<sup>7</sup>  
Karen Cristina Guedes Silva<sup>8</sup>

### Introdução

A maioria dos produtos alimentícios com probióticos existentes no mercado nacional refere-se a bebidas fermentadas à base de leite. Nestes produtos, os microrganismos estão livres e expostos às condições do meio, o que pode reduzir o número de células viáveis durante a estocagem. Esta perda de viabilidade microbiana reduz o tempo de validade da bebida, uma vez que o efeito probiótico no produto só é considerado enquanto a quantidade mínima viável de microrganismos estiver na faixa de 8 a 9 log de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) na porção referente à recomendação diária do produto pronto para o consumo (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2008).

Para atingir o efeito desejado, é necessário que os microrganismos probióticos cheguem ao trato gastrointestinal em número suficiente para exercer

sua atividade probiótica, o que equivale a cerca de 7 log UFC/g (SONG et al., 2013). Na trajetória do sistema digestório, as condições físico-químicas variam consideravelmente, o que diminui a viabilidade das bactérias probióticas, já que estas podem não sobreviver à passagem pelo trato gastrointestinal (TGI) na quantidade adequada para exercer atividade probiótica no cólon (MARTEAU et al., 1997; CHÁVARRI et al., 2010). Além disso, culturas probióticas anaeróbias, em especial as de *Bifidobacterium*, são bastante injuriadas pela exposição às condições ácidas e ao potencial redox desfavorável de vários alimentos. Assim, uma alternativa para aumentar a viabilidade (sobrevivência) dos microrganismos probióticos em bebidas não fermentadas é a utilização de microrganismos encapsulados (SONG, 2014), uma vez que as matrizes de encapsulação podem promover uma barreira física frente a condições drásticas, como as encontradas no trato gastrointestinal.

<sup>1</sup> Química, D.Sc. em Ciência dos Alimentos, pesquisadora da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ.

<sup>2</sup> Engenheira de Alimentos, D.Sc. em Engenharia de Alimentos, pesquisadora da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ.

<sup>3</sup> Engenheira de Alimentos, D.Sc. em Ciência e Tecnologia de Alimentos, pesquisadora da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ.

<sup>4</sup> Nutricionista, doutoranda da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ.

<sup>5</sup> Bióloga, técnica da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ.

<sup>6</sup> Químico Industrial, técnico da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ.

<sup>7</sup> Engenheira de Alimentos, D.Sc. em Engenharia de Alimentos, professora da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

<sup>8</sup> Engenheira de Alimentos, bolsista CAPES, doutoranda na Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

Existem diversas técnicas para a microencapsulação de probióticos, como *spray drying*, *spray coating*, coacervação, gelificação iônica e emulsificação, sendo as duas últimas bastante interessantes para aplicação em produtos com alto teor de umidade (BUREY, BHANDARI, HOWEST, 2009).

Neste trabalho, foram desenvolvidos microgéis contendo microrganismos probióticos, que foram aplicados em suco de maçã integral, proporcionando estabilidade da cultura frente à estocagem e às condições gastrointestinais simuladas *in vitro*.

## Processo de Encapsulação

O processo de encapsulação pela técnica de gelificação iônica utiliza solução biopolimérica contendo os microrganismos probióticos e agente prebiótico. A solução é atomizada diretamente em solução gelificante (cloreto de cálcio) para produção das micropartículas.

### Preparo dos sistemas de encapsulação

Materiais encapsulantes: gelatina (Gelco®, Brasil), alginato de sódio (Vetec®, Brasil) e solução gelificante (cloreto de cálcio 1,6 % p/v).

Cultura em pó de microrganismo probiótico *Lactobacillus acidophilus* La-5® (Christian Hansen, Dinamarca), água

destilada estéril, solução de cloreto de sódio 0,5 % (p/v) estéril e agente prebiótico Orafit®Oligofructose (Beneo, Bélgica).

### Preparo da solução biopolimérica

A solução biopolimérica deve ser preparada em ambiente estéril.

Para preparar 100 mL da solução encapsulante é necessário utilizar 50 mL de solução 1,5 % (p/v) de gelatina (Solução A) e 50 mL de solução 1,0 % (p/v) de alginato contendo o microrganismo probiótico e o agente prebiótico (Solução B).

No preparo da solução A, 1,5 g de gelatina deve ser misturada a 50 mL de água destilada estéril a 50 °C, com agitação magnética, até completa dissolução.

Para preparar a solução B é necessário hidratar 10 g da cultura em pó de microrganismo probiótico com 50 mL de cloreto de sódio a 0,5 % (p/v). Essa hidratação deve ser realizada com lenta agitação manual a cada 10 minutos, num total de três vezes em 30 minutos (WALTER et al., 2016). Após a hidratação, adicionar 1 g de alginato de sódio, até completa dissolução e, então, adicionar 3 g de prebiótico, sob agitação, até completa dissolução. Juntar as soluções A e B e manter sob agitação constante, em agitador magnético, por 1 hora. Ao final desse período a solução para encapsulação estará pronta (Figura 1).

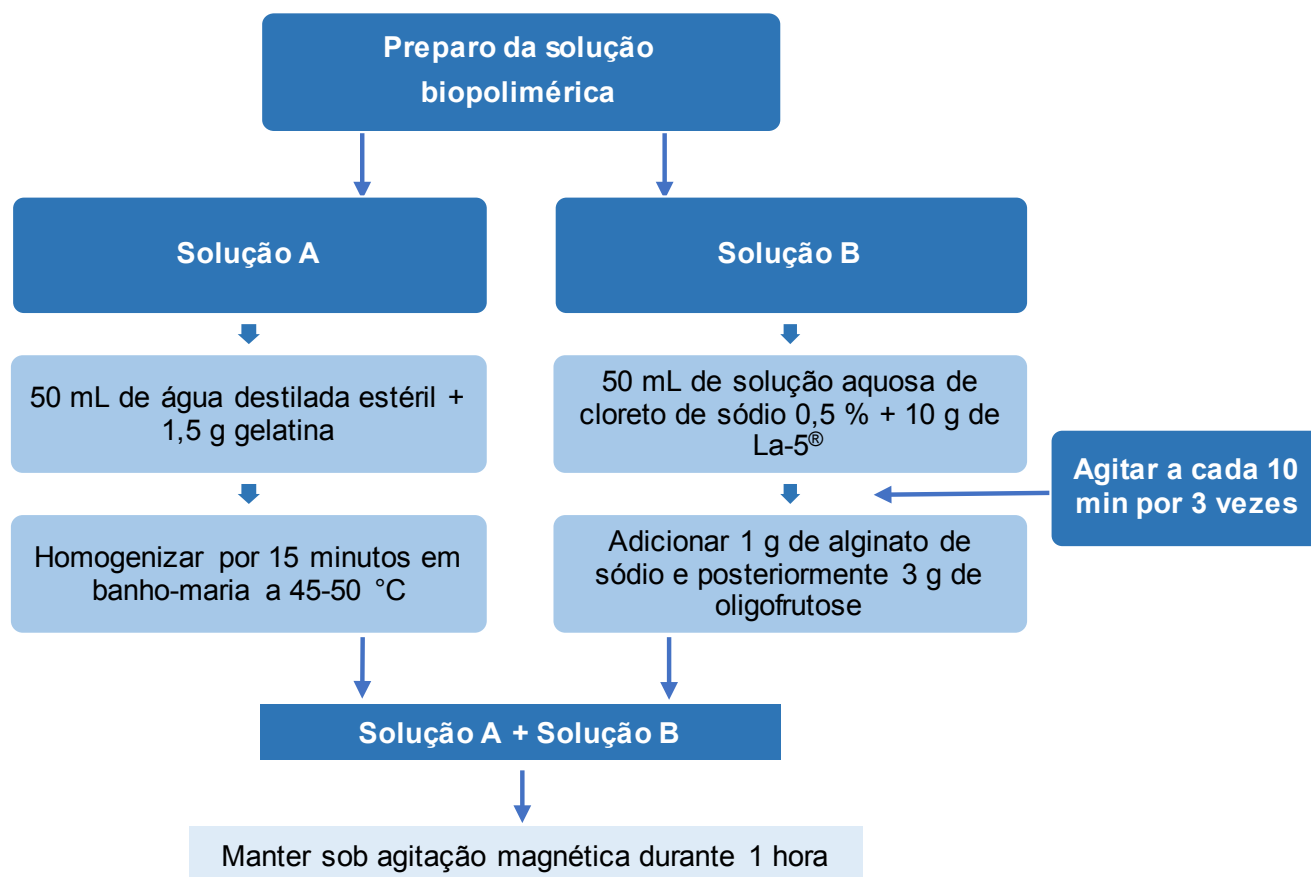
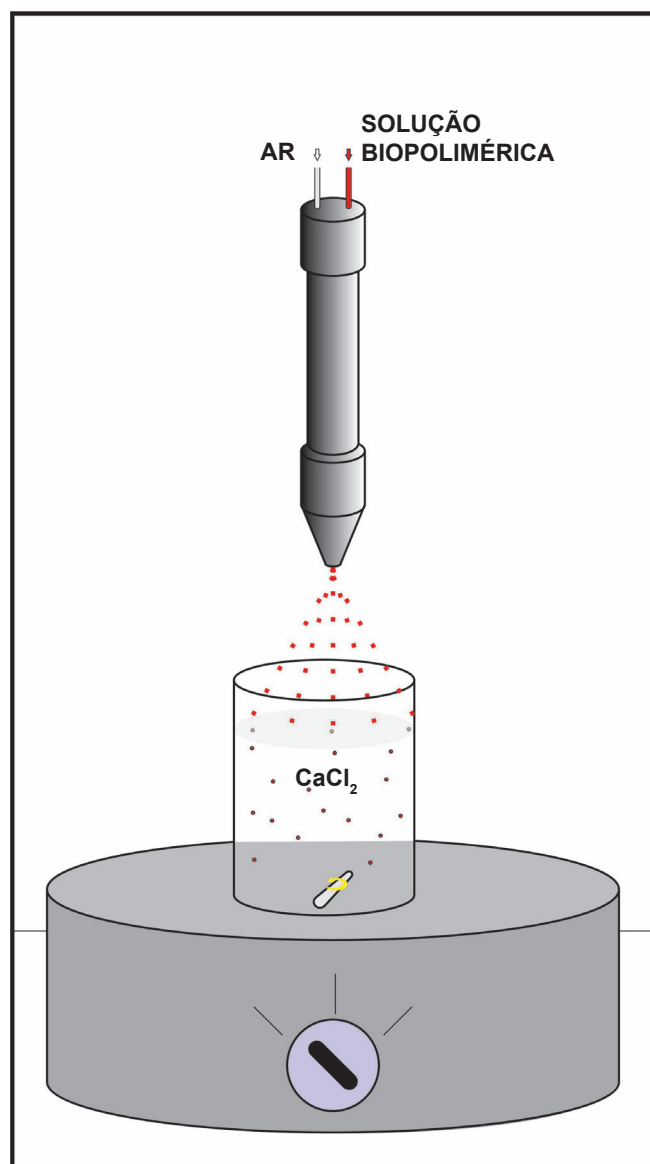


Figura 1. Preparo da solução biopolimérica.

## Passagem pelo atomizador

A passagem pelo atomizador (Figura 2) deve ser realizada de maneira asséptica.

A solução biopolimérica contendo os microrganismos probióticos e o agente prebiótico deve ser atomizada em solução de cloreto de cálcio, utilizando bico atomizador com diâmetro de 0,5 mm, pressão de 450 bar, e distância de 20 cm entre o bico e a solução de cloreto de cálcio.



**Figura 2.** Passagem da solução biopolimérica pelo atomizador.

A solução de cloreto de cálcio contendo os microgéis deve ser peneirada, também de forma asséptica, em peneira com *mesh* 0,062 mm. A solução de cloreto de cálcio deve ser descartada, não podendo ser reutilizada.

Os microgéis que ficam na peneira devem ser recolhidos em frasco estéril, podendo ser armazenados sob refrigeração (7 a 10 °C), por até 30 dias ou serem imediatamente aplicados no produto desenvolvido que, no caso, foi o suco de maçã. O produto resultante é a bebida de maçã com probiótico.

## Eficiência do processo

A eficiência da encapsulação pela técnica de gelificação iônica foi determinada por meio de análise microbiológica da amostra do banho de solução de cloreto de cálcio onde foi recolhida a solução biopolimérica. Essa amostra foi submetida à enumeração de *Lactobacillus acidophilus*, seguindo a metodologia descrita por De Man, Rogosa e Sharpei (1960). Como resultado, constatou-se que não houve multiplicação do microrganismo na amostra do banho, podendo-se concluir que todo o probiótico presente na solução biopolimérica foi encapsulado.

## Viabilidade dos microrganismos

A viabilidade dos microrganismos encapsulados pela técnica de gelificação iônica na bebida de maçã foi de 30 dias sob refrigeração com uma contagem da ordem de 8 log UFC/mL de bebida. Na avaliação da sobrevivência frente às condições gastrointestinais simuladas, realizadas utilizando a metodologia descrita por Madureira et al. (2011), a viabilidade foi 6 – 7 log UFC/mL de bebida aos 21 dias de estocagem sob refrigeração (7-10 °C). Para a bebida preparada com o mesmo probiótico não encapsulado, a viabilidade foi da ordem de 6 – 7 log UFC/mL por 8 dias, porém os microrganismos não sobreviveram às condições gastrointestinais simuladas. Pode-se concluir que o processo de encapsulação do *Lactobacillus acidophilus* La-5® aumenta a vida útil da bebida não láctea não fermentada com probióticos.

## Referências

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos. IX – Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas. (Atualizado em julho/2008). Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/novos\\_ingredientes.htm](http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/novos_ingredientes.htm)>. Acesso em: 14 ago. 2014.

BUREY, P.; BHANDARI, B.; HOWES, T. Gel particles from spray-dried disordered polysaccharides. **Carbohydrate Polymers**, v.76, p. 206-213, 2009.

CHÁVARRI, M.; MARAÑÓN, I.; ARES, R.; IBÁÑEZ, F. C.; MARZO, F.; VILLARÁN, M. C. Microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastro-intestinal conditions. **International Journal of Food Microbiology**, v. 142, n. 1-2, p. 185-189, 2010.

DE MAN, J. C.; ROGOSA, M.; SHARPE, M. E. A medium for the cultivation of lactobacilli. **The Journal Applied Bacteriology**, v. 23, p. 130-135, 1960.

MADUREIRA, A. R.; AMORIM, M.; GOMES, A. M.; PINTADO, M. E.; MALCATA, F. X. Protective effect of whey cheese matrix on probiotic strains exposed to simulated gastrointestinal conditions. **Food Research International**, v. 44, n. 1, p. 465-470, 2011.

MARTEAU, P.; MINEKUS, M.; HAVENAAR, R.; HUIS IN'T VELD, J. H. J. Survival of lactic acid bacteria in a dynamic model of the stomach and small intestine: validation and the effects of bile. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p.1031-1037, 1997.

SONG, H.; YU, W.; GAO, M.; LIUB, X.; MA, X. Microencapsulated probiotics using emulsification technique coupled with internal or external gelation process. **Carbohydrate Polymers**, v. 96, p. 181-189, 2013.

SONG, H.; YU, W.; LIUB, X.; MA, X. Improved probiotic viability in stress environments with post-culture of alginate-chitosan microencapsulated low density cells. **Carbohydrate Polymers**, v. 108, p. 10-16, 2014.

WALTER, E. H. M.; CARNEIRO, M. S.; FELBERG, I.; OLIVEIRA, D. R.; COSTA, S. D. O.; CONTE, C. **Obtenção de bebidas fermentadas por probióticos a partir de diferentes matérias-primas da soja**. Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2016. (Comunicado Técnico, 219).

### Comunicado Técnico, 221

Ministério da  
Agricultura, Pecuária  
e Abastecimento



Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:  
**Embrapa Agroindústria de Alimentos**  
**Endereço:** Av. das Américas, 29.501 - Guaratiba  
23020-470 - Rio de Janeiro - RJ  
**Fone:** (21) 3622-9600 / **Fax:** (21) 3622-9713  
**Home Page:** [www.embrapa.br/agroindustria-de-alimentos](http://www.embrapa.br/agroindustria-de-alimentos)  
**SAC:** [www.embrapa.br/fale-conosco](http://www.embrapa.br/fale-conosco)

1ª edição  
1ª impressão (2017): tiragem (50 exemplares)

### Comitê de Publicações

**Presidente:** Virgínia Martins da Matta  
**Membros:** Ana Iraidy Santa Brígida, André Luis do Nascimento Gomes, Celma Rivanda Machado de Araujo, Daniela De Grandi Castro Freitas de Sá, Elizabete Alves de Almeida Soares, Leda Maria Fortes Gottschalk, Marcos de Oliveira Moulin, Renata Torrezan e Rogério Germani

### Expediente

**Supervisão editorial:** Daniela De Grandi C. F. de Sá  
**Revisão de texto:** Regina Celi Araujo Lago  
**Normalização bibliográfica:** Celma R. M. de Araujo  
**Editoração eletrônica:** André Luis do N. Gomes