

## Área: Tecnologia de Alimentos

# MICROENCAPSULAÇÃO DE *Lactobacillus acidophilus* La-5 COM DEXTRINA DE MANDIOCA COMO AGENTE ENCAPSULANTE

**Karina de Carvalho, Rafaela Dal Pra Brand, Manuel V. S. P. Oviedo e Deisy A. Drunkler\***

*Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Av. Brasil, 4232, Parque Independência, CEP 85884-000, Medianeira, Paraná, Brasil*

*\*E-mail: deisydrunkler@utfpr.edu.br*

**RESUMO:** Os probióticos, em virtude dos benefícios já comprovados, são de crescente procura e interesse pelos consumidores. No entanto, para manter a viabilidade destes nos alimentos em que são adicionados, bem como durante sua passagem pelo trato digestório, a microencapsulação tem se mostrado como uma técnica promissora. O objetivo do trabalho foi otimizar a eficiência da microencapsulação por atomização de *Lactobacillus acidophilus* La-5 empregando dextrina de mandioca utilizando um Delineamento Central Composto Rotacional do tipo 2<sup>3</sup>, com 3 pontos centrais e 6 axiais. O presente trabalho, avaliou a eficiência da encapsulação, onde os pontos centrais apresentaram-se com a maior eficiência (média-65%), frente as condições aplicadas no tratamento (27,5% m.m<sup>-1</sup> de dextrina de mandioca, temperatura do ar de entrada de 91 °C e vazão de alimentação de 0,75 L h<sup>-1</sup>).

**Palavras-chave:** probiótico, carboidrato, *spray drying*.

## 1 INTRODUÇÃO

Os probióticos podem ser definidos como micro-organismos vivos, não patogênicos, que conferem vantagens à saúde dos consumidores se ingeridos diariamente numa concentração mínima de 10<sup>6</sup> UFC g<sup>-1</sup> de produto (ROBINSON, 1987; SAAD, 2006; STEFE, et al. 2008). Entre os micro-organismos, alguns gêneros de bactérias e leveduras são consideradas probióticos, dentre eles *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* (LEE, 2012), *Enterococcus* (MARTINS, 2012), entre outros.

O consumo de probióticos está associado a uma série de efeitos benéficos, dentre eles, aumento na biodisponibilidade de nutrientes, produção de vitaminas (CRUZ, 2011; SAAD, 2006; OLIVEIRA-SEQUEIRA, ET AL. 2008; SANTOS, 2013), o que tem estimulado a adição destes micro-organismos em diferentes produtos, principalmente lácteos (LEE, 2012, RANADHEERA, et al. 2017).

No entanto, o emprego comercial tem sido limitado devido à instabilidade que estes micro-organismos apresentam, quer durante a produção ou armazenamento. Desta forma, a microencapsulação tem sido estudada como um método eficaz para a proteção dos probióticos a ambientes agressivos e de liberação controlada em condições desejadas, permitindo o aumento da aplicabilidade dos probióticos em produtos alimentares (ANAL; SINGH, 2007; LEE, 2012; MENEZES ET AL., 2013). A técnica de microencapsulação consiste no processo de empacotamento de materiais sólidos, líquidos ou gasosos em cápsulas extremamente pequenas, permitindo o isolamento do núcleo (GOUIN, 2004). Várias técnicas têm sido empregadas na elaboração de microcápsulas.

Dentre as técnicas, a microencapsulação por atomização (*spray drying*) vem se destacando por seu baixo custo operacional e produção em larga escala (DZIEZAK, 1988).

Existem vários interferentes para a estabilidade dos probióticos quando encapsulados, dentre eles, além do método e condições aplicadas escolhido, destacam-se os materiais encapsulantes. Os amidos, quando desidratados e submetidos a um tratamento térmico de elevada temperatura na presença de ácidos obtém-se um produto chamado de dextrina, que se caracteriza pela alta solubilidade e baixa viscosidade, entre as aplicações está o uso como agente encapsulante (WURZBURG, 2006). Desta forma, o objetivo do trabalho foi otimizar a microencapsulação por atomização de *Lactobacillus acidophilus* La-5 empregando como material de parede dextrina de mandioca tartarato utilizando como variáveis, variação da concentração de dextrina na solução e temperatura e vazão de entrada da solução no atomizador.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Para a obtenção da dextrina de mandioca foi utilizada a metodologia proposta por Xie e Liu (2004), com adaptações, onde o ácido cítrico foi substituído pelo ácido tartárico e a temperatura modificada de 130 °C para 150 °C.

O processo de microencapsulação foi avaliado por meio de um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) do tipo 2<sup>3</sup> (8 tratamentos + 03 pontos centrais + 06 axiais = 17 tratamentos), visando à otimização da resposta eficiência da microencapsulação. As faixas de estudo das variáveis foram determinadas em testes preliminares, conforme apresentado na Tabela 01.

A cultura probiótica de *L. acidophilus* (1% m.v<sup>-1</sup>) foi inoculada em caldo MRS (De Man Rogosa and Sharpe, Merck, Darmstadt, Alemanha) e incubada, em anaerobiose, a 37 °C ± 1 °C até atingir a fase estacionária (9 horas). A seguir, a biomassa do micro-organismo foi recolhida por centrifugação a 3000 g na temperatura de 4 °C durante 10 minutos (Centrifuga Refrigerada Cientec, CT-5000R, Minas Gerais, Brasil), foi posteriormente adicionado à suspensão de dextrina a ser passada pelo *spray drying*. A dextrina tartarato de mandioca foi dispersa em água estéril, nas proporções definidas no planejamento, seguida da correção do pH para 5,0 (com solução de NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>), homogeneização e aquecimento (80 °C) até completa dissolução. A seguir, foi resfriada a temperatura de 25 °C para ser adicionado de 1% (m v<sup>-1</sup>) da cultura em fase estacionária, homogeneizada por um minuto em agitador magnético à temperatura ambiente (25 °C ± 1 °C) (752A, Fisatom). As suspensões foram submetidas à secagem em *spray dryer* de escala laboratorial (MSDi 1.0, Labmaq do Brasil), mantidas sob agitação à temperatura ambiente e alimentadas para a câmara de secagem por meio de bomba peristáltica sob condições constantes de pressão do compressor do ar de secagem (2 - 4 kgf cm<sup>-2</sup>), vazão de ar comprimido (35 kgf cm<sup>-2</sup>) e diâmetro de saída do ar no sistema (1 mm) com bico duplo fluído. As partículas em pó produzidas foram coletadas na base do ciclone e armazenadas em recipiente de vidro Scott hermeticamente fechados, previamente esterilizados.

Para realizar a enumeração do probiótico livre e encasulado foi empregado a metodologia utilizada por Fritzen-Freire et al. (2012), com adaptações. No caso das microcápsulas, estas foram pesadas e diluídas em água peptonada, seguido do rompimento conforme descrito por Sheu et al. (1993). A eficiência da microencapsulação foi calculada, conforme proposto por Picot e Lacroix (2004).

Para análise dos efeitos das variáveis do planejamento, sobre a eficiência da microencapsulação, foi aplicado à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade ( $p \leq 0,05$ ), quando verificado diferença significativa.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A eficiência da microencapsulação de *L. acidophilus* empregando dextrina de mandioca como agente encapsulante, pode ser observado na Tabela 02. Os valores obtidos para os pontos centrais (T 15, 16 e 17), apresentaram pequena variação entre si, indicando boa repetibilidade do processo. A eficiência da microencapsulação variou de 38,54 (tratamento 1), para 65,74% (tratamento 17).

**Tabela 01:** Matriz do Delineamento Central Composto Rotacional (DCCR) com resposta da eficiência da microencapsulação.

Tratamentos	x <sub>1</sub>	x <sub>2</sub>	x <sub>3</sub>	EM%
1	-1 (23)	-1 (83)	-1 (0,6)	38,54±0,11 <sup>c,d,e,f</sup>
2	+1 (32)	-1 (83)	-1 (0,6)	43,19±0,03 <sup>b,c,d,e</sup>
3	-1 (23)	+1 (99)	-1 (0,6)	37,41±0,03 <sup>f</sup>
4	+1 (32)	+1 (99)	-1 (0,6)	39,67±0,02 <sup>d,e,f</sup>
5	-1 (23)	-1 (83)	+1 (0,9)	44,4±0,11 <sup>b,c,d,e</sup>
6	+1 (32)	-1 (83)	+1 (0,9)	55,9±0,38 <sup>c,d,e,f</sup>
7	-1 (23)	+1 (99)	+1 (0,9)	46,08±0,38 <sup>e,f</sup>
8	+1 (32)	+1 (99)	+1 (0,9)	49,23±0,15 <sup>e,f</sup>
9	- 1,68 (20)	0 (91)	0 (0,75)	54,25±0,20 <sup>b,c,d,e</sup>
10	+ 1,68 (35)	0 (91)	0 (0,75)	43,86±0,02 <sup>f</sup>
11	0 (27,5)	-1,68 (77)	0 (0,75)	56,11±0,11 <sup>b,c,d,e,f</sup>
12	0 (27,5)	+1,68 (105)	0 (0,75)	40,12±0,13 <sup>a</sup>
13	0 (27,5)	0 (91)	-1,68 (0,5)	60,57±0,23 <sup>b,c,d</sup>
14	0 (27,5)	0 (91)	+1,68 (1,00)	63,95±0,86 <sup>a,b</sup>
15	0 (27,5)	0 (91)	0 (0,75)	64,42±0,81 <sup>a,b</sup>
16	0 (27,5)	0 (91)	0 (0,75)	64,70±0,11 <sup>b,c</sup>
17	0 (27,5)	0 (91)	0 (0,75)	65,74±0,80 <sup>b,c,d</sup>

Nota: x<sub>1</sub>= Concentração de dextrina (g.100 mL<sup>-1</sup>); x<sub>2</sub>= Temperatura (°C); x<sub>3</sub>= Vazão de entrada (L h<sup>-1</sup>); EM (%):Eficiência da microencapsulação.

Fonte: Autoria própria.

No geral, os resultados obtidos neste trabalho foram inferiores aos obtidos por Menezes et al. (2015), que ao microencapsular *L. acidophilus* utilizando extrato de soja e maltodextrina na razão de 3 : 2 (m.m<sup>-1</sup>), com temperatura de entrada de ar de 87 °C e vazão de alimentação de 0,54 L.h<sup>-1</sup>, obtiveram eficiência de 83%. Arslan et al. (2015) obtiveram eficiência de 92,84% ao microencapsular por atomização *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* empregando goma arábica e gelatina como materiais de parede. Porém, valores semelhantes foram relatados no trabalho de Bustamante et al. (2015), ao microencapsular *L. acidophilus* por *spray drying* empregando mucilagem de linhaça e proteína solúvel, obtiveram eficiência de encapsulação entre 62 - 71%, com temperatura de entrada de 125 °C.

Frente ao resultados obtidos, a Equação 1 descreve a eficiência da microencapsulação prevista pelo modelo em função das variáveis codificadas, no modelo reparametrizado que contém, apenas os termos estatisticamente significativos, ao nível de 5 % de significância.

$$y_1 = 61,97 + 0,30 \cdot x_1 - 6,63 \cdot x_1^2 - 2,67 \cdot x_2 - 6,97 \cdot x_2^2 \quad (1)$$

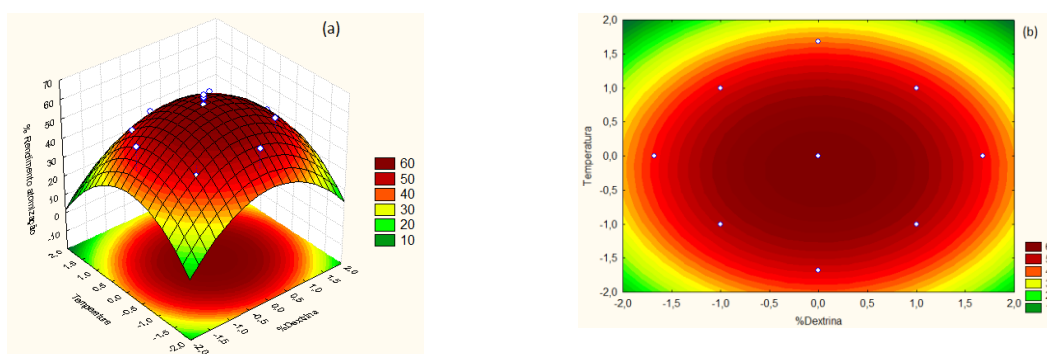
A análise de variância (ANOVA) apresentada, na Tabela 3, permite corroborar a significância do modelo obtido, bem como na superfície de resposta (Figura 1), onde pode-se confirmar a maior eficiência nos valores do planejamento próximos aos pontos centrais ((27,5% m.m<sup>-1</sup> de dextrina de mandioca, temperatura do ar de entrada de 91 °C e vazão de alimentação de 0,75 L h<sup>-1</sup>).

**Tabela 3:** Análise de Variância (ANOVA) do modelo quadrático para resposta rendimento da microencapsulação.

Fonte de variação	Soma de quadrados (SQ)	de Graus de liberdade (GL)	de Quadrado médio (MQ)	F calculado	F tabelado	p-valor
REGRESSÃO	1025,46	4	256,37	4,738	3,26	0,01587
RESÍDUO	649,31	12	54,11			
TOTAL	1674,776	16				

R<sup>2</sup>= 61,23%

Fonte: Autoria própria.



**Figura 1:** Superfície de resposta (a) e curva de contorno (b) para a eficiência da microencapsulação, em razão da temperatura de atomização e concentração de dextrina utilizadas no planejamento.

Fonte: Autoria Própria.

É possível verificar que as maiores reduções na eficiência da microencapsulação foram correlacionadas com o aumento da temperatura do ar de entrada, o que está de acordo com os resultados obtidos por Anekella e Orsat (2013) e Arslan-Tontul e Ebas (2017).

## 4 CONCLUSÃO

A otimização das condições de *spray drying*, embora ter apresentado uma perda de viabilidade significativa, permitiu a obtenção de microcápsulas com uma boa concentração de células viáveis, acima de 10<sup>6</sup> UFC/g, com boas características visíveis, para estabilidade e sobrevivência do probiótico *L. acidophilus*. A dextrina de mandioca demonstrou características promissoras em termos de retenção de viabilidade durante a secagem por pulverização.

## 5 AGRADECIMENTOS

À CAPES e à UTFPR, pelas bolsas DS-CAPES e Iniciação Científica (PIBIC), respectivamente.

## 6 REFERÊNCIAS

- ANAL, A. K.; SINGH, H.. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. **Trends in Food Science & Technology**, v.18, p, 240-251, 2007.
- ANEKELLA, K.; ORSAT, V. Optimization of microencapsulation of probiotics in raspberry juice by *spray drying*. **LWT- Food Science and Technology**, v. 50, n. 2, p. 17-24, 2013.
- ARSLAN, S.; ERBAS, M.; TONTUL, I.; TOPUZ, A. Microencapsulation of probiotic *Saccharomyces cerevisiae* var. *bouardii* with diferente wall materials by *spray drying*. **LWWT- Food Science Tecnology**, 63, p. 685-690, 2015.
- BUSTAMANTE, M.; VILLARROEL, M.; RUBILAR, M.; SHENE, C. *Lactobacillus acidophilus* La-05 encapsulated by *spray drying*: Effect of mucilage and protein from flaxseed (*Linum usitatissimum* L.). **LWT- Food Science and Technology**, v. 62, p. 1162-1168, 2015.
- CRUZ, V. D'A. **Efeito de bebidas enriquecidas com frutooligosacarídeos (FOS), produzidos pela linhagem *Aspergillus japonicus*-119, no trato intestinal de ratos Wistar**. Dissertação (Instituto de Biociências). Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”. Estado de São Paulo- Brasil. Janeiro de 2011.
- DZIEZAK, J. D. Microencapsulation and encapsulated ingredients. **Food Technology**, v. 42, n. 4, p. 136-151, 1988.
- FRITZEN-FREIRE, C. B.; PRUDÊNCIO, E. S.; AMBONI, R. D.M.C.; PINTO, S. S.; NEGRÃO-MURAKAMI, A. N.; MURAKAMI, F.S. Microencapsulation of bifidobacteria by *spray drying* in the presence of prebiotics. **Food Research International**, v. 45, p. 306–312, 2012.
- GOUIN, S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. **Trends in Food Science & Technology**, v 15, n. 7-8, p.330-347, 2004.
- LEE, E. Y. **Effect of atomization on viability of microencapsulated probiotics**. (dissertação de mestrado) Master of Science in Food Science and Human Nutrition in the Graduate College of the University of Illinois at Urbana-Champaign, 2012.
- MARTINS, D. O. **Avaliação da adição da *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014 e *Enterococcus faecium* CRL 183 sobre a microbiota intestinal em Simulador do Ecosistema Microbiano Humano (SEMH)**. (Trabalho de conclusão de curso) Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara. Araraquara, 2012.
- MENEZES, C. R. de; BARINL, J. S.; CHICOSKIL, A. J.; ZEPKAL, L. Q.; JACOB-LOPESL, E.; FRIESL, L. L. M.; TERRA, N. N. Microencapsulação de probióticos: avanços e perspectivas. **Ciência Rural**, v. 43, n. 7, p. 1309-1316, 2013.

- MENEZES, L.A. A. **Otimização da microencapsulação de *Lactobacillus acidophilus* com extrato de soja e maltodextrina como agentes encapsulantes por spray drying.** Universidade tecnológica federal do paraná Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos. Medianeira. 2015.
- OLIVEIRA – SEQUEIRA, T. C. Go. de; RIBEIRO, C. M.; GOMES, M. I. F. V. Potencial bioterapêutico dos probióticos nas parasitoses intestinais. **Ciência Rural**, v.38, n.9, p.2670-2679, dez, 2008.
- PICOT, A.; LACROIX, C.. Encapsulation of *Bifidobacteria* in whey protein-based microcapsules and survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt, v. 14, n.6, p. 505-515, 2004.
- RANADHEERA, C. S.; EVANS, C. A.; ADAMS, M. C.; BAINES, S. K. 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**, v.123, n. 1, p. 155–159., jan. 2015.
- ROBINSON, R.K. 1987. Survival of *Lactobacillus acidophilus* in fermented products. **South African Journal of Dairy Science**, v.19, n. 1, p. 25-7. 1987.
- SAAD, S. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.42, n.1, p.1-16, 2006.
- SANTOS, R. C. S. dos. **Microencapsulação de *Lactobacillus casei* por Spray Drying.** Dissertação de Mestrado (Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial), Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013.
- SHEU, T. Y., MARSHALL, R. T.; HEYMANN, H. Improving survival of culture bacteria in frozen desserts by microentrapment. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 1902–1907. 1993.
- STEFE, C. de A.; ALVES, M. A. R.; RIBEIRO, R. L. Probióticos, prebióticos e simbióticos- artigo de revisão. Saúde e ambiente- em revista, v. 3, n. 1, p. 16-33, jan-jun, 2008.
- WURZBURG, O. B. Modified Starches. In: **Food Polysaccharides and their applications**; 2ª Ed. CRC Press. Taylor & Francis Group, p. 88-113, 2006.
- XIE, X.; LIU, Q. Development and physicochemical characterization of new resistant citrate starch from different corn starches. **Starch/ Staerke**, v. 56, n. 8, p. 364–370, 2004.