

5.07.03 - Ciência e Tecnologia de Alimentos / Engenharia de Alimentos

ADIÇÃO DE MICROCÁPSULAS SIMBIÓTICAS EM PRODUTOS LÁCTEOS: AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE E VIABILIDADE

Eliza C. Cezarino¹, Karen Cristina Guedes Silva², Ana Carla K. Sato²

1. Estudante de IC da Fac.de Engenharia de Alimentos da UNICAMP

2. Pós-graduanda da Fac.de Engenharia de Alimentos da UNICAMP

3. FEA-UNICAMP. Departamento de Engenharia de Alimentos / Orientadora

Resumo:

Este trabalho teve como objetivo a aplicação de micropartículas probióticas (AG) e simbióticas (AGF) em diferentes alimentos. Avaliou-se o efeito da sua adição no comportamento reológico dos alimentos, bem como a viabilidade e liberação dos probióticos incorporados nos microgéis durante a digestão (*in vitro*) e armazenamento. A análise de reologia indicou que a adição de 20% de micropartículas não causou alteração significativa na viscosidade das matrizes alimentícias. A viabilidade durante o armazenamento demonstrou que as micropartículas probióticas apresentaram maior viabilidade (maior contagem), enquanto que as simbióticas apresentaram maior estabilidade (menor variação de contagem). A digestibilidade indicou que a microencapsulação aumenta a viabilidade dos microrganismos probióticos durante a digestão *in vitro* com liberação do probiótico em ambiente entérico.

Palavras-chave: Microgél; probiótico; simbiose.

Apoio financeiro: Cnpq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

Trabalho selecionado para a JNIC pela instituição: UNICAMP.

Introdução:

Probióticos são definidos como microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro¹. Os prebióticos, por outro lado, são compostos alimentares não digeríveis, que passam pelo cólon, estimulando seletivamente a proliferação e/ou atividade de bactérias desejáveis *in situ* e, conseqüentemente, contribuindo para a estabilização da flora intestinal². A utilização de um composto prebiótico juntamente com um microrganismo probiótico formam produtos simbióticos, resultando em um efeito de sinergia³, já que o prebiótico é capaz de favorecer o desenvolvimento do microrganismo,

aumentando a sua sobrevivência e atividade^{4 5}.

Porém, deve-se considerar que os microrganismos probióticos são susceptíveis a condições de temperatura, pH e até mesmo à presença de oxigênio. Nesse sentido a encapsulação de microrganismos vivos deve balancear a proteção frente às condições drásticas de processamento, armazenamento e da etapa de digestão gástrica, com a liberação em sítio adequado para garantir a biodisponibilidade dos compostos encapsulados⁵.

A matriz alimentícia na qual as partículas contendo estes microrganismos serão adicionadas também deve ser considerada para se determinar as condições de liberação dos compostos encapsulados^{6 7}. A biodisponibilidade dos compostos pode ser aumentada ou diminuída pela manipulação da microestrutura e/ou propriedades físico-químicas dos alimentos que os contêm. Nestes sistemas, a taxa de digestão pode depender da rapidez com que as enzimas digestivas podem penetrar na matriz alimentar e interagir com os substratos encapsulados⁷.

Assim, este trabalho teve como objetivo a aplicação de micropartículas probióticas e simbióticas em alimentos com diferentes características reológicas a fim de aumentar a viabilidade dos probióticos. Assim, foi realizado o estudo da viabilidade e liberação de microgéis probióticos e simbióticos durante a digestão (*in vitro*) e armazenamento, bem como foi avaliada a influência da adição das micropartículas no comportamento reológico de diferentes alimentos.

Metodologia:

Preparo das soluções biopoliméricas e dos microgéis: Solução contendo 1,5% (m/v) de gelatina Tipo A Bloom 280 (Gelco, Brasil) foi preparada pela adição do pó em água deionizada a temperatura ambiente. Posteriormente, aqueceu-se a solução a 45°C, sob constante agitação magnética por 15 minutos. A solução foi resfriada até 25°C antes da adição de 1% de alginato (Danisco, França) (m/v). Para o microgél AGF, 3% (m/v) de prebiótico (FOS) (Corn Products, Brasil) foram adicionados à solução contendo os dois

biopolímeros. 4% (m/v) de cultura de *Lactobacillus acidophilus* (Chr. Hansen, Dinamarca) foi adicionada posteriormente às soluções⁸. As micropartículas foram produzidas pela técnica de atomização, na qual a solução biopolimérica contendo os microrganismos probióticos e o prebiótico foi atomizada em solução gelificante de CaCl₂ para produção das micropartículas.

Incorporação nas matrizes alimentícias: Para a incorporação das micropartículas produziu-se iogurte líquido e frozen iogurte segundo método de GONÇALVES e EBERLE (9) com algumas alterações, e optou-se por uma formulação comercial de iogurte pastoso (Grego, Danone). Microgéis foram incorporados às matrizes alimentícias em uma proporção de 20% (m/m) para avaliação da viabilidade durante armazenamento e digestibilidade. Probióticos não encapsulados foram incorporados em uma amostra controle de cada um dos produtos avaliados.

Caracterização reológica: A influência da adição de 10, 15 e 20% (m/m) de micropartículas nas características reológicas dos diferentes alimentos foi avaliada através de ensaios a altas deformações. Os ensaios foram realizados em reômetro AR 1500-ex (TA instruments, Inglaterra), com taxas de deformação variando de 0 a 300 s⁻¹.

Viabilidade das bactérias encapsuladas: Para a avaliação da viabilidade dos microrganismos encapsulados, foram realizadas contagens ao longo de 28 dias de armazenamento dos microrganismos adicionados nos diferentes alimentos. A cada sete dias, 1g das micropartículas foi separada dos alimentos e adicionada em 10 mL de citrato de sódio para liberação dos microrganismos da rede polimérica. Já para os microrganismos livres, 1 mL de iogurte contendo os probióticos livres, foi adicionado de 10 mL de citrato de sódio. Após a liberação, os microrganismos foram inoculados em ágar MRS e incubados a 37°C por 48 horas, em jarras de anaerobiose.

Digestibilidade in vitro: Os alimentos foram submetidos a ensaios de simulação de digestão *in vitro* pelo método estático em sistema de agitação orbital. Amostras foram retiradas a cada 20 minutos e foram então submetidas a análise de distribuição de tamanho, microscopia ótica e plaqueamento para se verificar a modificação das partículas e a viabilidade dos *L. acidophilus* ao longo das etapas digestivas.

Resultados e Discussão:

Analisou-se a influência da adição das

micropartículas nas características reológicas das matrizes alimentícias através de ensaios a altas deformações (Figuras 1, 2 e 3), com o intuito de avaliar a influência das micropartículas na textura do produto, o que pode ser relacionado à percepção por parte do consumidor.

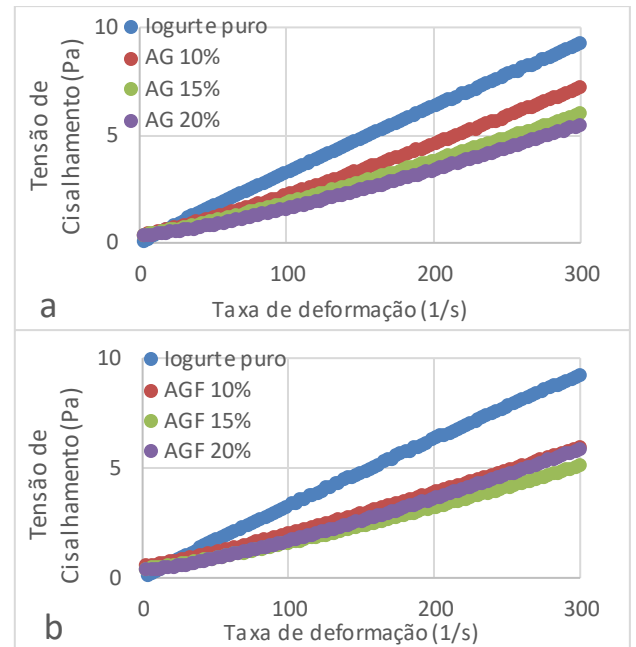


Figura 1: Curva de escoamento para o iogurte líquido adicionado com diferentes concentrações de a) micropartículas probióticas AG. b) micropartículas simbióticas AGF.

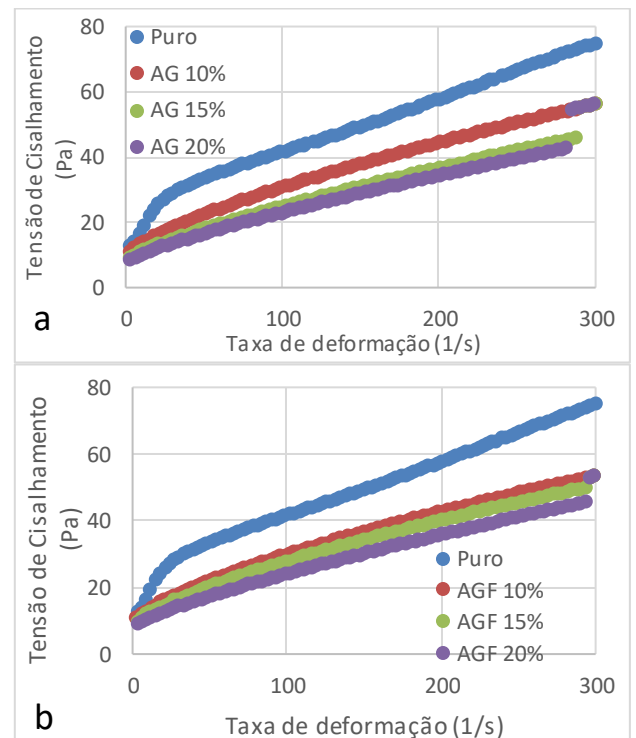


Figura 2: Curva de escoamento para o iogurte grego adicionado com diferentes concentrações de a) micropartículas probióticas AG. b) micropartículas simbióticas AGF.

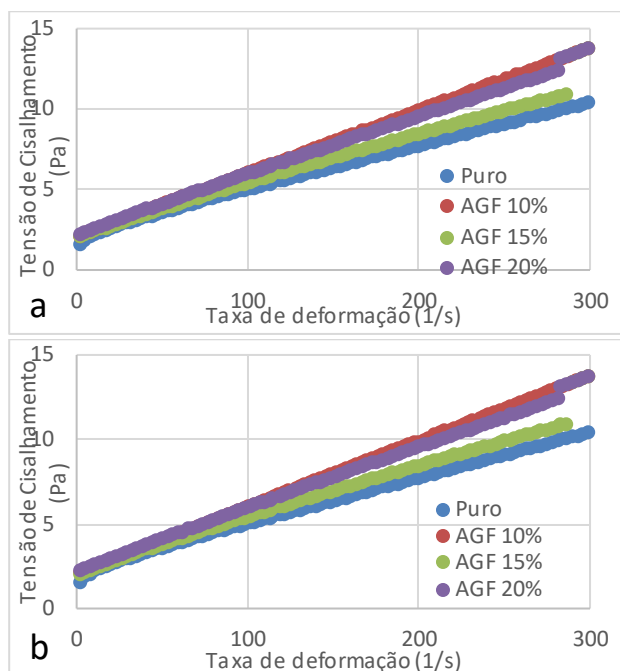


Figura 3: Curva de escoamento para o frozen iogurte adicionado com diferentes concentrações de a) micropartículas probióticas AG. b) micropartículas simbióticas AGF.

Pode-se observar que nos iogurtes líquido (Figura 1) e grego (Figura 2), o acréscimo de micropartículas reduziu a viscosidade dos alimentos, o que pode ser associado a um comportamento de *fluidgel*, facilitando o escoamento. Já no iogurte frozen houve aumento da viscosidade, o que foi atribuída à maior rigidez das partículas na temperatura de armazenamento (-18°C).

De um modo geral, observou-se que o acréscimo de até 20% de micropartículas não apresentou alteração significativa na viscosidade dos produtos avaliados, indicando que a adição de até 20% de partículas nos produtos estudados pode ser viável sem que uma alteração relevante na viscosidade dos produtos seja observada. A maior quantidade de partículas possibilita uma maior quantidade de probióticos incorporados nos alimentos, sem alterações nas características reológicas do produto.

A viabilidade dos microrganismos incorporados nas micropartículas AGF (com prebiótico), AG (sem prebiótico) e dos probióticos livres em iogurte líquido, grego e frozen na proporção de 20% (m/m) foram avaliados ao longo do armazenamento (Figura 4).

Pode-se observar que o probiótico livre (PL) apresentou menor viabilidade em todos os alimentos avaliados, principalmente ao 28º dia (Figura 4). Também pode-se observar que as amostras AG apresentaram viabilidade maior (maior contagem UFC/g) que as AGF,

porém estas apresentam-se mais estáveis com menores variações de contagem ao longo dos 28 dias. Quanto às matrizes alimentícias, pode-se observar que o iogurte líquido é o mais propício para a adição dos microrganismos, pois apresentou maior viabilidade, seguido pelo iogurte frozen e posteriormente pelo iogurte pastoso.

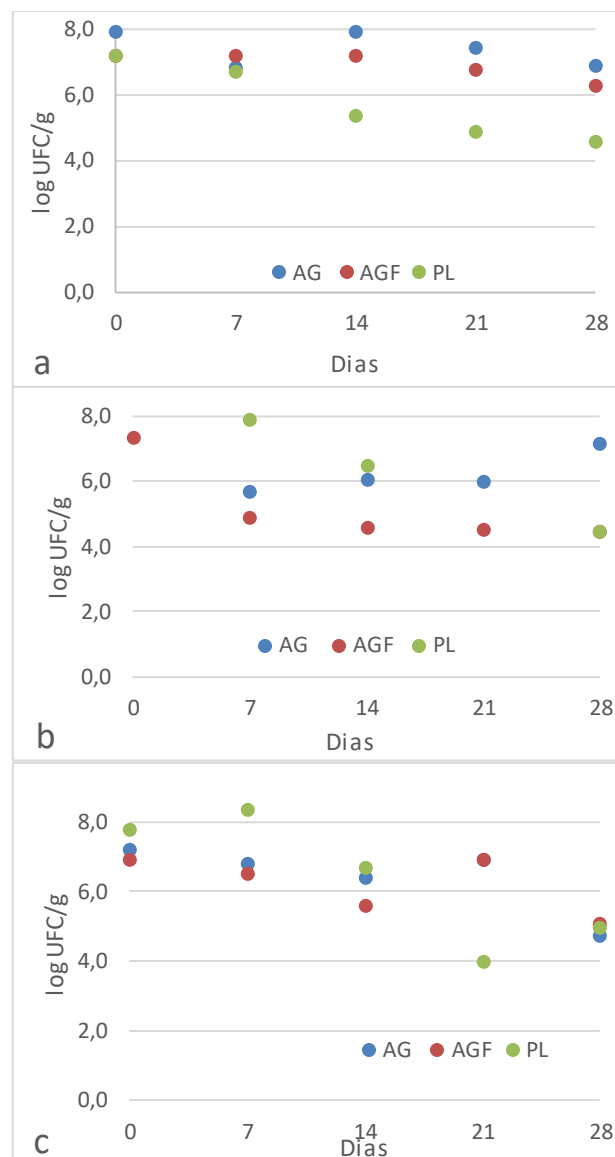


Figura 4: Viabilidade dos *L. acidophilus* microencapsulados e *L. acidophilus* livres adicionados em produtos lácteos ao longo do armazenamento. a) Iogurte líquido. b) Iogurte grego. c) Frozen iogurte.

As micropartículas AG, AGF e o probiótico livre (PL), também foram avaliados em relação à simulação gastrointestinal *in vitro* (Figura 5), com a finalidade de caracterizar o perfil de liberação dos microrganismos durante as etapas gástrica e entérica. A amostra de iogurte grego não apresentou crescimento de colônias, o que foi associado à presença de sorbato de potássio na composição do produto, que é um antimicrobiano. Além disso,

acredita-se que a microestrutura mais compacta deste alimento dificultou a interação das enzimas digestivas com as partículas, o que pode ter reduzido a contagem de microrganismos.

Pela Figura 5, pode-se observar que o iogurte frozen apresentou melhor viabilidade em relação ao iogurte líquido e que o probiótico livre apresentou menor viabilidade em relação aos microrganismos microencapsulados. Tal resultado foi associado à falta de proteção dos probióticos livres, ressaltando o papel das micropartículas na sobrevivência dos probióticos. Além disso, as micropartículas AG e AGF apresentaram comportamentos similares, indicando que a presença de FOS não influenciou a digestibilidade das partículas.

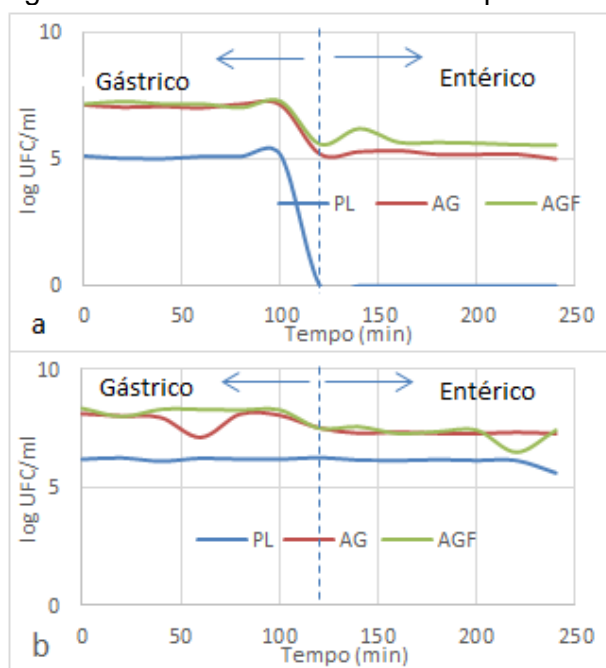


Figura 5: Viabilidade de *L. acidophilus* incorporados no a) iogurte tradicional e b) frozen iogurte, ao longo da digestão *in vitro*.

Conclusões:

Conclui-se que as micropartículas protegem o probiótico frente às condições de armazenamento e da etapa de digestão gástrica, com a liberação em condições entéricas, isto é, em sítio adequado para garantir a biodisponibilidade dos probióticos.

Além disso, as micropartículas simbióticas, com presença de FOS, apresentam-se mais estáveis ao armazenamento e mais viáveis durante a digestão *in vitro* enquanto que as partículas probióticas, sem a adição de FOS, apresentaram maior viabilidade durante o armazenamento.

Os resultados deste trabalho também mostraram que a matriz alimentar também influencia a viabilidade e a estabilidade do

probiótico. Suas características físico-químicas, composição e microestrutura afetam a velocidade com que as enzimas digestivas podem penetrar na matriz alimentar e interagir com os substratos encapsulados.

Referências bibliográficas

¹SAAD, S.M, I. **Probióticos e prebióticos: o estado da arte.** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, 42, 1-16, 2006.

²GIBSON, G.R.; ROBERFROID, M.B. **Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics.** Journal of Nutrition, 125, 1401-1412, 1995.

³GONZALEZ, N.J.; ADHIKARI, K.; SANCHO-MADRIZ, M.F. **Sensory characteristics of peach-flavored yogurt drinks containing prebiotics and symbiotics.** Food Science and Technology, 44, 158-163, 2011

⁴HOLZAPFEL, W.H.; SCHILLINGER, U. **Introduction to pre- and probiotics.** Food Research International, 35, 109-116, 2002.

⁵ONWULATA, C.I. **Encapsulation of new active ingredients.** Annual Review of Food Science and Technology, 3, 183-202, 2012.

⁶ABRAHAMSSON, B.; PAL, A.; SJÖBERG, M.; CARLSSON, M.; LAURELL, E.; BRASSEUR, J. G. **A novel in vitro and numerical analysis of shear-induced drug release from extended-release tablets in the fed stomach.** Pharmaceutical Research, 22, 1215-1226, 2005.

⁷McCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A.; PARK, Y.; WEISS, J. **Designing food structure to control stability, digestion, release and absorption of lipophilic food components.** Food Biophysics, 3, 219-228, 2008.

⁸OKURO, P. K.; THOMAZINI, M.; BELIEIRO, J.C.C.; LIBERAL, R.D.C.O.; FÁVARO-TRINDADE, C.S. **Co-encapsulation of *Lactobacillus acidophilus* with inulin or polydextrose in solid lipid microparticles provides protection and improves stability.** Food Research International, 53, 96-103, 2013.

⁹GONÇALVES, A.A; EBERLE, I.R. **Frozen yogurt com bactérias probióticas.** Alimentos e Nutrição, 19, 291-297, 2008.