

X CIGR Section VI International Technical Symposium Food: the tree that sustains life

24 a 27 de outubro de 2016 - FAURGS- Gramado / RS

# ESTABILIDADE DO SUCO PROBIÓTICO DE JUÇARA (Euterpe edulis M.) MICROENCAPSULADO POR SPRAY DRYING E POR LIOFILIZAÇÃO

D.R.S.F. Paim<sup>1</sup>, A.S.C. Teles<sup>2</sup>, S.O. Costa<sup>3</sup>, E.H.M. Walter<sup>3</sup>, R.V.Tonon<sup>3</sup>

- 1- Instituto de Tecnologia, Departamento de Engenharia Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) - CEP: 23897-000 - Seropédica - RJ - Brasil, Tel.: (55-21) 2682-1864 - e-mail: (iclaqb12@gmail.com)
- 2- Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) CEP: 21941-909 Cidade Universitária - Rio de Janeiro - RJ - Brasil, Tel.: (55-21) 3938 7351. - e-mail: (aline\_cascaes@yahoo.com.br) 3- Embrapa Agroindústria de Alimentos - Avenida das Américas, 29501, Guaratiba, CEP: 23020-470, RJ, Brasil. Tel: (55-21) 3622-9600 – e-mail: (simone.costa@embrapa.br, eduardo.walter@embrapa.br, renata.tonon@embrapa.br)

RESUMO - Este trabalho teve como objetivo a avaliação da estabilidade à estocagem do suco de juçara probiótico microencapsulado. O suco de juçara adicionado de micro-organismos Bifidobacterium animalis spp. Lactis foi microencapsulado por dois métodos (spray drying e liofilização), utilizando como material de parede uma mistura contendo maltodextrina e inulina (1:1). As partículas produzidas foram estocadas em diferentes temperaturas (7 e 35 °C) e avaliadas em relação à contagem de células viáveis, compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante, ao longo de 180 dias. As amostras estocadas a 35 °C apresentaram contagem inferior a 10<sup>4</sup> UFC/g logo no trigésimo dia de estocagem, enquanto as armazenadas a 7°C apresentaram contagem superior a 10<sup>7</sup> UFC/g. O processo de liofilização resultou em maior contagem de micro-organismos ao longo da estocagem. O teor de compostos fenólicos e a capacidade antioxidante mantiveram-se estáveis até 60 dias de estocagem, apresentando um decréscimo mais pronunciado a partir de 120 dias.

ABSTRACT - This study aimed to evaluate the storage stability of microencapsulated probiotic juçara juice. The juice added of Bifidobacterium animalis spp. Lactis microorganisms was microencapsulated by two methods (spray drying and freeze drying), using as wall material a mixture of maltodextrin and inulin (1: 1). The particles produced were stored at different temperatures (7 and 35 °C) and evaluated for viable cell count, total phenolics and antioxidant capacity over 180 days. The samples stored at 35 °C showed less than 10<sup>4</sup> CFU/g on the thirtieth day of storage, while those stored at 7 ° C had counts higher than 10<sup>7</sup> CFU/g. Freeze drying resulted in higher cell counts over storage. The phenolic compounds content and antioxidant capacity remained stable up to 60 days of storage, with a more pronounced decrease after 120 days.

PALAVRAS-CHAVE: Bifidobacterium animalis; microencapsulação; compostos fenólicos.

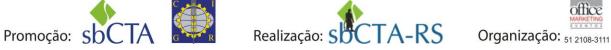
KEYWORDS: Bifidobacterium animalis; microencapsulation; phenolic compounds.

# 1. INTRODUÇÃO

O crescente interesse dos consumidores por alimentos benéficos à saúde tem incentivado as pesquisas voltadas para o desenvolvimento dos chamados "alimentos funcionais". Esta preocupação crescente dos consumidores tem levado a indústria alimentícia a desenvolver novas linhas de produtos,











X CIGR Section VI International Technical Symposium Food: the tree that sustains life

24 a 27 de outubro de 2016 - FAURGS- Gramado / RS

com características nutricionais especiais, como os com atividade pré e probiótica. Dentre os alimentos funcionais, os probióticos vêm se destacando pelos benefícios promovidos à flora intestinal de quem os consome (OZEN et al., 2012).

Em geral, os probióticos são incorporados em produtos lácteos, como iogurtes e leites fermentados. No entanto, estes nem sempre representam uma boa opção de consumo, devido ao seu teor de lactose e de colesterol, o que pode comprometer a saúde de consumidores com intolerância ou níveis alterados de tais compostos (HEENAN et al., 2004). Nesse sentido, o desenvolvimento de sucos de frutas probióticos, na forma líquida ou em pó, é uma opção de diversificação de produtos para a indústria.

A juçara é um fruto oriundo da palmeira *Euterpe edulis* Martius, originária da Mata Atlântica, que vem sendo ameaçada de extinção devido à prática indiscriminada do extrativismo do palmito. Apresenta composição química e teores de antocianinas e polifenóis muito semelhante ao açaí proveniente da região amazônica (BORGES et al., 2011). A elevada quantidade de compostos fenólicos, como as antocianinas, presentes no açaí, tem levado empresas estrangeiras a produzirem cápsulas de extrato de frutas, comercializadas com apelo funcional, devido principalmente à sua elevada capacidade antioxidante.

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo desenvolver um suco de juçara probiótico microencapsulado, utilizando como agentes carreadores maltodextrina adicionada do prebiótico inulina, e avaliar sua estabilidade à estocagem. Foram avaliados dois métodos de encapsulação (*spray drying* e liofilização) e duas temperaturas de estocagem (7 e 35°C).

# 2. MATERIAIS E MÉTODOS

Como matéria-prima foi utilizada polpa de juçara congelada adquirida da empresa VIP POLPA (Rio Novo do Sul, ES). Como probiótico, utilizou-se a cultura liofilizada do tipo DVS de *Bifidobacterium animalis* spp. Lactis (Chr. Hansen Ind., Copenhagen, Dinamarca) e como agentes encapsulantes foram utilizados a maltodextrina 1910<sup>®</sup> (Ingredion, São Paulo) e inulina HPX<sup>®</sup> (Orafti, São Paulo).

### 2.1. Caracterização da polpa de juçara

A polpa de juçara foi caracterizada quanto ao seu pH, sólidos solúveis, umidade, acidez total (A.O.A.C., 2006), compostos fenólicos totais (GEORGÉ et al., 2005), antocianinas totais (GIUSTI & WROLSTAD, 2001) e atividade antirradical ABTS+ (RE et al., 1999).

# 2.2. Microencapsulação

A polpa de juçara foi centrifugada e adicionada da cultura de probióticos (0,1% p/p), dos agentes carreadores (15% p/p, sendo 7,5% de maltodextrina e 7,5% de inulina), e foi mantida sob agitação magnética até completa dissolução destes materiais.

A formulação foi então submetida à microencapsulação por dois métodos distintos:

- *Spray drying*: mini *spray dryer* LabPlant SD-06 (Huddersfield, Reino Unido), com pressão do ar comprimido de 2,5 bar, velocidade média do ar de 4,3 m/s e temperatura de secagem de 140 °C;
  - Liofilização: liofilizador de bandejas Pirani 501 (Edwards, New York, EUA).

## 2.3. Caracterização do pó

O teor de antocianinas totais e monoméricas foi determinado pelo método espectrofotométrico do pH diferencial, descrito por Giusti & Wrolstad (2001).

O conteúdo de polifenóis totais foi determinado através do método colorimétrico utilizando o reagente Folin-Ciocalteu (GEORGÉ et al., 2005).











X CIGR Section VI International Technical Symposium Food: the tree that sustains life

24 a 27 de outubro de 2016 - FAURGS- Gramado / RS

A capacidade antioxidante (atividade antirradical livre) foi determinada pelo método espectrofotométrico baseado na descoloração do radical livre ABTS+ (ácido 2,2′-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico sal diamônio 98% pureza), de acordo com Re et al. (1999). Os resultados foram expressos como TEAC (Capacidade Antioxidante Equivalente ao Trolox) em μmol Trolox/g de amostra.

A avaliação microbiológica foi realizada de acordo com a metodologia proposta pela International Dairy Federation (2006).

#### 2.4. Estudo da Estabilidade

Para a avaliação da estabilidade, as amostras produzidas por *spray drying* e por liofilização foram armazenadas em embalagens laminadas de polietileno e estocadas nas temperaturas de 7 °C e 35 °C. As amostras foram analisadas com relação à viabilidade das bactérias probióticas, teor de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante durante um período de 180 dias.

#### 2.5. Análise estatística

Os dados obtidos nas análises foram tratados estatisticamente por meio de análise das médias, utilizando o teste *Tukey* para verificação da existência de diferenças significativas entre as médias e utilizando o intervalo de confiança de 95%, com o auxilio do *software Statistica* 8.0.

# 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1. Caracterização da Polpa

A caracterização da polpa filtrada utilizada no presente estudo está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição físico-química da polpa de juçara filtrada.

Componente	Polpa filtrada
Umidade (g/100g)	$93,19 \pm 0,17$
pH	$4,82 \pm 0.02$
Sólidos Solúveis (°Brix)	$5,0 \pm 0,1$
Acidez (g ácido cítrico/100g)	$0,10 \pm 0,00$
Fenólicos Totais (mg AGE /100g)	$415,07 \pm 26,87$
Fenólicos Totais (mg AGE /100g m.s.)*	$6095,00 \pm 394,56$
Antocianinas Totais (mg/100g)	$79,42 \pm 1,95$
Antocianinas Totais (mg/100g m.s.)*	$1166,22 \pm 28,63$
Atividade Antirradical ABTS <sup>+</sup> (µmol de Trolox equivalente/g)	$27,75 \pm 1,39$
Atividade Antirradical ABTS <sup>+</sup> (µmol de Trolox equivalente/g m.s.)*	$407,48 \pm 20,41$

<sup>\*</sup> Resultados expressos em base seca.

# 3.2. Estabilidade à estocagem

Nas Tabelas 2, 3 e 4 estão apresentados os resultados obtidos para as análises microbiológicas, de fenólicos totais e atividade antirradical do suco de juçara probiótico produzido por *spray drying* e liofilização.

De acordo com a Tabela 2, o produto estocado a 7 °C, produzido por ambos os métodos, apresentou contagem superior à recomendada pela FAO/WHO (2013) (6,0 log UFC/g) ao longo dos 180 dias de estocagem. Já as amostras armazenadas a 35°C apresentaram contagem inferior a  $10^4$  UFC/g após 30 dias de estocagem, independentemente do método de produção. Este resultado foi











X CIGR Section VI International Technical Symposium Food: the tree that sustains life

24 a 27 de outubro de 2016 - FAURGS- Gramado / RS

semelhante aos reportados por Desmond et al. (2002), que armazenaram *Lactobacillus paracasei* NFBC 338 microencapsulado por *spray dryer* a 4, 15 e 30 °C e verificaram que quanto menor a temperatura utilizada na estocagem, maior a viabilidade dos probióticos durante 4 meses de estocagem.

Tabela 2 - Contagem de bifidobactérias viáveis nas formulações atomizada e liofilizada ao longo do tempo de estocagem.

Contagem de bifidobactérias (log UFC/g)					
TEMPO (dias)	Liofilização		Spray drying		
	7 °C	35 °C	7 °C	35 °C	
0	9,55	9,55	9,13	9,13	
15	8,90	6,50	8,90	7,15	
30	9,25	< 4	7,93	< 4	
60	8,59	< 4	7,69	< 4	
90	8,91	< 4	7,73	< 4	
120	8,62	< 4	7,50	< 4	
150	8,82	< 4	7,74	< 4	
180	8,53	< 4	7,34	< 4	

As amostras liofilizadas armazenadas a 7 °C apresentaram maior preservação dos probióticos ao longo dos 180 dias de estocagem quando comparadas às produzidas por *spray drying*, que apresentaram uma redução significativa na contagem de células viáveis a partir do trigésimo dia. As amostras liofilizadas apresentaram contagem superior às atomizadas em todos os tempos de estocagem. De acordo com Anal & Singh (2007), bactérias probióticas são sensíveis à temperatura à qual são submetidas durante a secagem, pois suas membranas celulares e proteínas podem sofrer danos, o que pode levar à perda da atividade probiótica após algumas semanas de armazenamento. Isso pode explicar as menores taxas de sobrevivência observadas nas amostras produzidas por *spray drying*.

Pereira et al. (2014) observou comportamento semelhante no suco de caju probiótico microencapsulado por *spray drying* utilizando maltodextrina e goma arábica como materiais de parede. Os autores verificaram que a contagem de *Lactobacillus casei* foi consideravelmente maior para os pós estocados a 4 °C, em comparação aos estocados a 25 °C, confirmando o efeito negativo da temperatura sobre a sobrevivência dos micro-organismos.

Tabela 3 - Concentração de fenólicos totais nas formulações atomizada e liofilizada ao longo do tempo de estocagem.

Fenólicos Totais (mg/100g)					
	Liofilização		Spray drying		
TEMPO (dias)	7 °C	35 °C	7 °C	35 °C	
0	$2567,4 \pm 47,7^{aA}$	$2567,4 \pm 47,7^{aA}$	$2493,6 \pm 70,4^{aA}$	$2493,6 \pm 70,4^{aA}$	
15	$2649,9 \pm 95,8^{aA}$	$2711,0 \pm 48,5^{aA}$	$2662,5 \pm 30,3^{aA}$	$2635,3 \pm 63,3^{aA}$	
30	$2506,3 \pm 56,1^{aA}$	$2364,7 \pm 324,5^{bA}$	$2462,7 \pm 95,4^{aA}$	$2472,6 \pm 46,7^{aA}$	
45	$2605,1 \pm 149,7^{aA}$	$2465,5 \pm 58,7^{aA}$	$2387,7 \pm 91,9^{aB}$	$2433,3 \pm 38,2^{aA}$	
60	$2617,6 \pm 38,4^{aA}$	$2540,6 \pm 151,9^{aA}$	$2350,5 \pm 150,1^{aB}$	$2488,1 \pm 36,6^{aA}$	
120	$1947,2 \pm 23,1^{A}$	N.D.	$1893,42 \pm 23,13^{B}$	N.D.	
180	$1910,6 \pm 58,1^{A}$	N.D.	$1262,8 \pm 71,8^{B}$	N.D.	

N.D. = não determinado

Letras diferentes indicam diferença significativa. Letra minúscula: entre diferentes temperaturas; Letra maiúscula: entre diferentes processos.











X CIGR Section VI International Technical Symposium Food: the tree that sustains life

24 a 27 de outubro de 2016 - FAURGS- Gramado / RS

O teor de compostos fenólicos se manteve estável até 60 dias de estocagem, apresentando um decréscimo em 120 dias. As amostras estocadas em diferentes temperaturas não apresentaram diferenças significativas entre si, para cada processo. Em relação aos diferentes processos, as amostras liofilizadas apresentaram maior retenção de fenólicos a partir de 60 dias de estocagem a 7 °C.

Quanto à atividade antioxidante, as amostras apresentaram uma variação muito pequena (Tabela 4) ao longo do tempo até 60 dias de estocagem, indicando que tanto a liofilização como a atomização foram capazes de estabilizar os compostos responsáveis por essa atividade. Estes resultados estão em conformidade com os obtidos por Saénz et al. (2009), no estudo da polpa de figo da Índia microencapsulada com maltodextrina e inulina, estocadas a 60 °C. Analogamente ao observado para os compostos fenólicos, as amostras apresentaram uma redução mais pronunciada da atividade antioxidante a partir de 120 dias de estocagem, indicando que aqueles compostos estão diretamente relacionados a esta propriedade.

Tabela 4 - Avaliação da Atividade Antirradical ABTS+ na formulação Atomizada e Liofilização ao longo do tempo de estocagem em base seca.

longo do tem	po de estocagem em i	buse seed.				
Atividade Antirradical ABTS <sup>+</sup> (µmol de Trolox equivalente/g)						
	Liofilização		Spray drying			
TEMPO	7 °C	35 °C	7 °C	35 °C		
(dias)						
0	$172, 6 \pm 16,0^{aA}$	$172,6 \pm 16,0^{aA}$	$144,2 \pm 24,4^{aA}$	$144,2 \pm 24,4^{aA}$		
15	$182,9 \pm 37,7^{aA}$	$172,8 \pm 22,0^{aA}$	$111,7 \pm 12,2^{aB}$	$95,3 \pm 15,6^{aB}$		
30	$217,3 \pm 21,4^{aA}$	$186,6 \pm 14, 6^{aA}$	$137,8 \pm 25,5^{aB}$	$149.8 \pm 36.6^{aA}$		
45	$172,1 \pm 12,1^{aA}$	$227,4 \pm 48,0^{aA}$	$139,3 \pm 4,5^{aB}$	$129,5 \pm 17,6^{aB}$		
60	$164,6 \pm 34,3^{aA}$	$158,6 \pm 14,7^{aA}$	$145,2 \pm 13,8^{aA}$	$130,2 \pm 27,8^{aB}$		
120	$97,1 \pm 2,2^{A}$	N.D.	$91,5 \pm 0,5^{B}$	N.D.		
180	$88,1 \pm 6,4^{A}$	N.D.	$78,8 \pm 6,8^{B}$	N.D.		

N.D. = não determinado

Letras diferentes indicam diferença significativa. Letra minúscula: entre diferentes temperaturas; Letra maiúscula: entre diferentes processos.

# 4. CONCLUSÕES

As amostras produzidas por liofilização apresentaram maior contagem de micro-organismos viáveis durante a estocagem, quando comparadas às produzidas por *spray drying*.

O aumento da temperatura de estocagem afetou negativamente a sobrevivência dos microorganismos, sendo que as amostras estocadas a 35°C apresentaram contagem inferior a 10<sup>6</sup> UFC/g após 30 dias de estocagem, o que não cumpre a legislação brasileira, indicando que o produto deve ser estocado sob refrigeração.

Este estudo, além de buscar agregar valor ao fruto da juçara, pouco conhecido e consumido atualmente e de gerar conhecimentos sobre o efeito da secagem e das condições de estocagem sobre as propriedades do suco de juçara adicionado de probióticos, dados ainda pouco encontrados na literatura, permitiu a obtenção de um produto que poderá ser de interesse tanto das indústrias alimentícias quanto farmacêuticas.

#### **5. AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa de estudos e à FAPERJ (Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio de Janeiro) pelo suporte financeiro.











X CIGR Section VI International Technical Symposium Food: the tree that sustains life

24 a 27 de outubro de 2016 - FAURGS- Gramado / RS

## 6. REFERÊNCIAS

A.O.A.C. Official Methods of Analysis. 18th ed. Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, Maryland, 2006.

Anal, A.K., & Singh, H. (2007). Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. *Trends in Food Science & Technology*, 18(5), 240-251.

Borges, G.D.S.C., Vieira, F.G.K.., Copetti, C., Gonzaga, L.V., Zambiazi, R.C., Filho, J.M., & Fett, R. (2013). Chemical characterization, bioactive compounds, and antioxidant capacity of jussara (*Euterpe edulis*) fruit from the Atlantic Forest in southern Brazil. *Food Research International*, 44(7), 2128-2133.

Desmond, C., Stanton, C., Gitzgerald, G. F., Collins, K., & Ross, R.P. (2002) Environmental adaptation of probiotic lactobacilli towards improvement of performance during spray drying. *International Dairy Journal*, 11(10), 801-808.

FAO/WHO. (2003). Standard for fermented milks. Codex standard 243 (pp. 1-8). FAO/WHO: Rome. Georgé, S., Brat, P., Alter, P., & Amiot, M. J. (2005). Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(5), 1370-137.

Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. *In WROLSTAD, R. E. (Ed.). Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. New York: John Wiley & Sons, Inc., Cap. F1, p.F1.2.1–1.2.13.

Heenan, C.N., Adams, M.C., Hosken, R.W., & Fleet, G.H. (2004). Survival and sensory acceptability of probiotic microorganisms in a nonfermented frozen vegetarian dessert. *LWT - Food Science and Technology*, v.37, n.4, p.461-466.

International Organization for Standardization; International Dairy Federation. (2006). ISO 20128/IDF 192: Milk products – Enumeration of presumptive Lactobacillus acidophilus on a selective medium – Colony-count technique at 37°C. Geneva: ISO, 11p.

Ozen, A.E., Pons, A., & Tur, J.A. (2012). Worldwide consumption of functional foods: A systematic review. *Nutrition Reviews*, 70(8), 472-481.

Pereira, A. L. F., Almeida, F. D. L., Lima, M. A., DA Costa, J. M. C., & Rodrigues, S. (2014). Spraydrying of probiotic cashew apple juice. *Food and bioprocess technology*, 7(9), 2492-2499.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant Activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26(9/10), 1231-1237.

Saénz, C., Tapia, S., Chávez, J., & Robert, P. (2009). Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). *Food Chemistry*, 114(2), 616-622.







