



XXI Congresso Brasileiro
de Engenharia Química

Fortaleza/CE
25 a 29 de setembro



XVI Encontro Brasileiro sobre o
Ensino de Engenharia Química
Fortaleza/CE
25 a 29 de setembro

INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA DE SECAGEM NA VIABILIDADE DE *Lactobacillus casei* EM SUCO DE LARANJA PROBIÓTICO SECO EM LEITO DE JORRO

N. N. ALVES¹, A. K. F. LEITE¹, B. A. de MORAIS¹, S. DESOBRY², J. M. C. da COSTA¹ e S. RODRIGUES¹

¹ Universidade Federal do Ceará, Centro de Tecnologia, Departamento de Engenharia de Alimentos

² Université de Lorraine, Laboratoire d'Ingénierie des Biomolécules (LIBio)

E-mail para contato: niedila@gmail.com

RESUMO – A temperatura de secagem é um dos principais parâmetros que interferem na perda de viabilidade dos microrganismos durante a secagem. Este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito da temperatura de secagem sobre a viabilidade de *Lactobacillus casei* em suco de laranja probiótico em pó. O suco de laranja probiótico foi produzido a partir da fermentação de suco de laranja comercial por *Lactobacillus casei*. Foi realizada a secagem em leito de jorro a 60, 70, 80 e 90 °C e foi utilizada maltodextrina DE 20 como agente de secagem. Todos os valores de viabilidade após a secagem foram superiores a 8,9 log UFC/g. Estes valores, foram, portanto, superiores ao valor recomendado para que os probióticos possam exercer seu efeito benéfico. A perda da viabilidade aumentou com o aumento da temperatura. No entanto, contribuiu para a diminuição da A_w . A temperatura também influenciou na T_g e na morfologia do produto em pó.

1. INTRODUÇÃO

Atualmente o apelo da população por saúde e bem-estar tem levado o mercado de probióticos a crescer significativamente, movimentando 28,8 bilhões de dólares em 2015 (Prisco; Mauriello, 2016) e introduzindo mais de 500 tipos de alimentos probióticos no mercado global nas últimas duas décadas (Tripathi; Giri, 2014). Apesar de apresentar uma certa variedade de produtos, o mercado de probióticos ainda é limitado aos produtos lácteos (Anekella; Orsat, 2013), o que é uma desvantagem para pessoas com intolerância a lactose e outras restrições no consumo de leite e seus derivados (Perricone *et al.*, 2015). O desenvolvimento de alimentos probióticos a base de frutas e vegetais, como os sucos de frutas, tem se mostrado como uma alternativa para atender a este público de consumidores que não pode ingerir produtos lácteos (Antunes *et al.*, 2013; Pereira *et al.*, 2011).

Sabendo-se que os sucos de frutas contêm alto teor de água, a retirada desta por um método adequado seria de grande validade. A secagem por leito de jorro é considerada como sendo um tipo de secagem a baixo custo, capaz de produzir produtos com qualidade semelhante aos obtidos por

PROMOÇÃO

REALIZAÇÃO

ORGANIZAÇÃO





XXI Congresso Brasileiro
de Engenharia Química

Fortaleza/CE
25 a 29 de setembro



XVI Encontro Brasileiro sobre o
Ensino de Engenharia Química
Fortaleza/CE
25 a 29 de setembro

outros métodos tradicionais de secagem. Neste processo, um fluxo de partículas inertes é formado dentro do equipamento de secagem. O material de interesse é inserido por uma bomba peristáltica, indo ao encontro das partículas inertes, recobrando-as e secando em seguida. O produto formado é então coletado por um ciclone na forma de um fino pó (Nascimento *et al.*, 2015). Uma das principais vantagens da secagem por leito de jorro é o fato de se poder trabalhar a baixas temperaturas, quando comparadas com outras técnicas de secagem (Fujita *et al.*, 2013). As baixas temperaturas podem contribuir para a sobrevivência do microrganismo probiótico durante e após a secagem, já que as altas temperaturas utilizadas durante a tradicional secagem por *spray dryer* é a principal causa da perda de viabilidade de microrganismos probióticos (Golowczyk *et al.*, 2011).

Normalmente têm sido usados como aditivos de secagem substâncias inertes, em geral de alto peso molecular, como proteínas e maltodextrina com diferentes dextroses equivalentes, goma arábica, amido, caseinato de sódio, derivados da indústria láctea, dentre outros (Goula; Adamopoulos, 2010; Jaya; Das, 2004). Os agentes de secagem são capazes de aumentar a temperatura de transição vítrea (T_g), e conseqüentemente, evitar problemas como a aglomeração, a pegajosidade e o colapso (Goula; Adamopoulos, 2010; Jaya; Das, 2004).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi verificar o efeito de quatro diferentes temperaturas de secagem sobre a viabilidade do microrganismo probiótico *Lactobacillus casei* em suco de laranja probiótico seco por leito de jorro.

2. METODOLOGIA

2.1. Preparo do inóculo

A cepa *Lactobacillus casei* NRRL B-442, obtida junto à coleção de culturas do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (NRRL Culture Collection, Peoria Illinois, USA) foi estocada a -20 °C em caldo De Man, Rogosa e Sharpe (MRS) (Himedia®) adicionado de glicerol 50% (v/v). Para a sua ativação, foram inoculados 8 mL da cultura estoque em 100 mL de caldo MRS contendo 10 mL de tampão fosfato de potássio dibásico (pH 6,5). A cultura foi mantida em estufa por tempo suficiente para atingir uma concentração de células da ordem de 10^9 UFC/mL.

2.2. Elaboração do suco de laranja probiótico

O suco de laranja concentrado congelado sem adição de conservantes e de açúcar (LANJAL®) foi inicialmente diluído em água (1:7). O pH do suco foi ajustado para 6,0, utilizando-se NaOH 12N. O suco formulado foi então fermentado pelo inóculo do *L. casei* NRRL B-442 (2 mL de cultura ativada para 100 mL de suco), durante 20 horas a 30°C em incubadora B.O.D. (Biochemical Oxygen Demand) (Marconi®, MA 415).

PROMOÇÃO

REALIZAÇÃO

ORGANIZAÇÃO



2.3. Secagem do suco de laranja probiótico

A secagem foi realizada utilizando-se equipamento leito de jorro (FBD 3.0, Labmaq do Brasil, SP, Brasil) equipado com uma câmara de secagem cônica de aço inoxidável ($h = 881$ mm; $D1 = 350$ mm; $D2 = 102$ mm). Foram mantidas fixas as seguintes condições: vazão do ar no soprador ($1,7$ m³/min), vazão do ar atomizado para bico (30 L/min), pressão do ar no bico (80 bar), carga de inertes de vidro (400 g). Variou-se a temperatura de secagem (60 , 70 , 80 e 90 °C). Utilizou-se como agente de secagem maltodextrina dextrose equivalente (DE) 10 (Maltogil 20) em 15% (p/p).

2.4. Análise da viabilidade do *L. casei* NRRL B-442

A contagem da quantidade de células foi realizada antes e após a secagem. Antes da secagem, 1 mL do suco fermentado foi diluído seriadamente em água peptonada até 10^{-7} . Foi inoculado $0,1$ mL das diluições 10^{-6} e 10^{-7} em placas de Agar MRS pelo método *spread plate*. As placas foram incubadas em incubadora B.O.D. (Marconi®, Modelo MA 415) a 37 °C por 72 horas. Após o período de incubação, as colônias típicas de *L. casei* foram enumeradas. Após a secagem, o produto em pó obtido foi dissolvido em água peptonada (1 g de pó para 9 mL) e a partir deste, foram realizadas diluições seriadas. Inoculou-se $0,1$ mL das diluições mais adequadas em placas de Petri contendo Agar MRS pelo método *spread plate*. Os resultados foram expressos em Unidades Formadoras de Colônias por grama (UFC/g). A redução logarítmica foi calculada conforme a equação 1.

$$\text{Redução logarítmica} = \log N_0 - \log N \quad (1)$$

Onde N_0 é o número de células de *L. casei* no suco de laranja probiótico antes da secagem e N é o número células de *L. casei* presentes no suco de laranja probiótico em pó. Ambos, N e N_0 , foram expressos por grama de Sólidos Solúveis Totais (SST) antes do cálculo da perda de viabilidade.

2.5. Análise da atividade de água

A análise da A_w foi realizada por medida direta no produto em equipamento digital marca Aqualab®, modelo 3TE.

2.6. Análise da temperatura de transição vítrea (T_g)

A temperatura de transição vítrea foi determinada por calorimetria diferencial exploratória em um equipamento DSC (Netzsch, Germany). Para tanto, 16 mg de cada amostra foi depositada em uma cápsula de alumínio hermeticamente fechada e submetida ao aquecimento de 0 a 100 °C a uma taxa

de 10 °C/min. Uma capsula de alumínio vazia foi utilizada como referência.

2.7. Análise da morfologia do produto em pó por microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As amostras foram depositadas em uma fita de carbono autocolante à temperatura ambiente. Em seguida foram cobertas com ouro-paládio (Polaron SC7640, Thermo VG Scientific, England). As amostras foram então observadas em um microscópio eletrônico de varredura (Cambridge Stereoscan S240) a 5 kV.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 1 mostra a viabilidade do microrganismo *L. casei*, antes e após a secagem por leito de jorro em diferentes temperaturas de secagem.

Tabela 1 – Sobrevivência do microrganismo probiótico *L. casei* e atividade de água (A_w) de suco de laranja fermentado após a secagem em leito de jorro.

Temperatura de secagem (°C)	Viabilidade (log UFC/g)	
	Antes da secagem	Depois da secagem
60	9,89 ± 0,01	9,73 ± 0,01
70	9,94 ± 0,01	9,56 ± 0,01
80	10,10 ± 0,02	9,42 ± 0,02
90	9,97 ± 0,02	8,93 ± 0,01

É possível se observar que para todas as temperaturas testadas, os valores de viabilidade obtidos foram superiores a 8,9 log UFC/g, sendo, portanto, superiores aos valores mínimos recomendados pela literatura para que um produto probiótico possa exercer seus efeitos benéficos (entre 10^6 e 10^8 no mínimo) (Anekella; Orsat, 2013). A fim de se comparar o efeito da temperatura sobre a viabilidade, foi realizado o cálculo da diferença logarítmica do valor da viabilidade antes a após a secagem. Os resultados estão apresentados na figura 1.

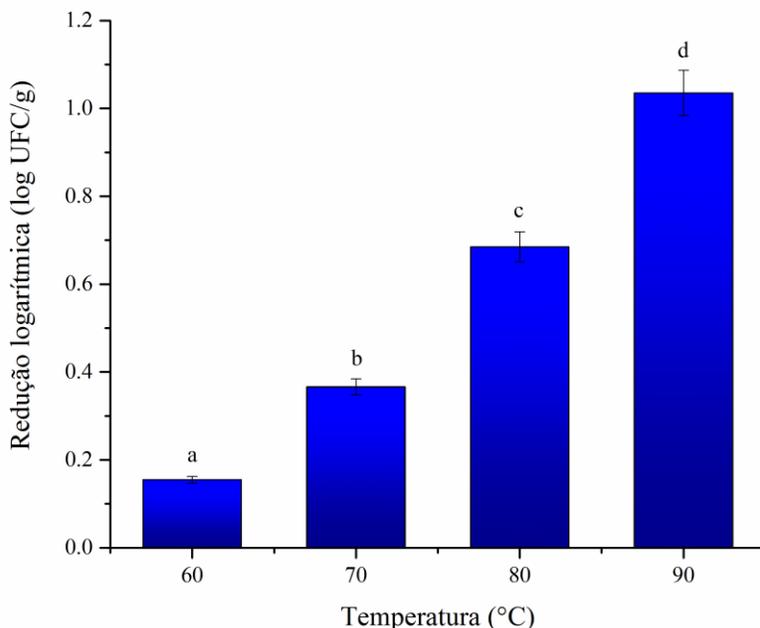


Figura 1 – Influência da temperatura de secagem na redução logarítmica da viabilidade de *L. casei* presente em suco de laranja fermentado.

A partir da figura 1, observa-se que à medida que a temperatura aumentou, a redução logarítmica também aumentou. Como a redução logarítmica é o inverso da sobrevivência, isso significa que a sobrevivência do microrganismo probiótico foi favorecida com a diminuição da temperatura. Sabe-se que, altas temperaturas são capazes de inativar as células microbianas, a partir de danos causados à membrana plasmática e a moléculas cruciais à célula, como o DNA, proteínas e ribossomos (Ananta *et al.*, 2005; Lapsiri *et al.*, 2012). Desta forma o aumento na temperatura pode ter inativado as células microbianas, causando o aumento da redução logarítmica e consequentemente, a diminuição da sobrevivência.

A atividade de água (A_w) e a temperatura de transição vítrea (T_g) são importantes fatores para a determinação da qualidade de produtos em pó. Observa-se que tanto a A_w , quanto a T_g , foram favorecidas pelo aumento da temperatura, isto é, a A_w diminuiu e a T_g aumentou. Altos valores de T_g baixos valores de A_w são requeridos para um produto probiótico em pó (Mestry *et al.*, 2011; Nualkaekul *et al.*, 2012). Devido a plasticidade da água, a diminuição da T_g está relacionada com o aumento da A_w . A diminuição da A_w com o aumento da temperatura, se deve ao fato de que quanto maior for a diferença entre a amostra e a temperatura da câmara de secagem do equipamento, maior será a taxa com que a água será retirada do material, resultando em menor teor de água (Goula; Adamopoulos, 2010; Krishnaiah *et al.*, 2014).

Tabela 2 – Influência da temperatura de secagem na A_w e na temperatura de transição vítrea (T_g) de suco de laranja probiótico em pó.

Temperatura de secagem (°C)	A_w	T_g
60	$0,183 \pm 0,004^a$	$43,3 \pm 0,2^a$
90	$0,103 \pm 0,011^c$	$52,7 \pm 0,3^c$

A figura 2 apresenta a morfologia do suco de laranja probiótico em pó produzido a partir da secagem em leito de jorra a 60 e 90 °C.

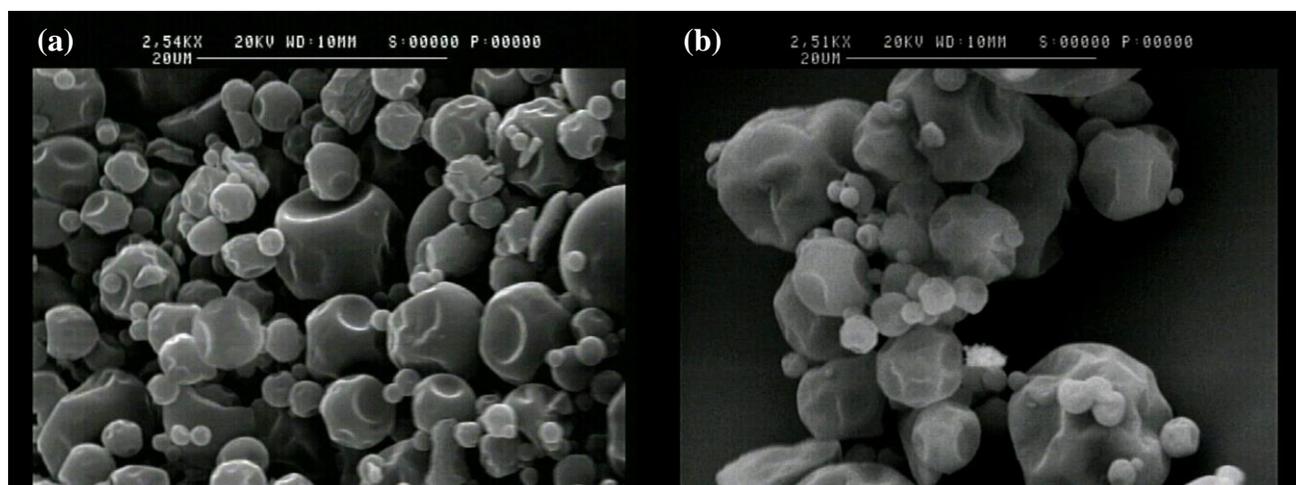


Figura 2 – Influência da temperatura de secagem na morfologia de suco de laranja fermentado em pó seco a 60 °C (a) e a 90 °C (b).

A figura 2 mostra que o aumento da temperatura resultou em partículas ligeiramente mais rugosas e aglomeradas. Durante a secagem, o movimento da umidade na superfície da partícula pode inflar, distorcer ou reduzi-las (Walton, 2000), ocasionado a diferença na morfologia das mesmas.

4. CONCLUSÃO

A secagem por leito de jorro mostrou-se como eficiente para a produção de suco de laranja probiótico em pó, uma vez que altos valores de viabilidade foram obtidos após a secagem, para as quatro temperaturas de secagem testadas. A viabilidade diminuiu significativamente com o aumento



XXI Congresso Brasileiro
de Engenharia Química

Fortaleza/CE
25 a 29 de setembro



XVI Encontro Brasileiro sobre o
Ensino de Engenharia Química
Fortaleza/CE
25 a 29 de setembro

da temperatura. No entanto, a A_w e a T_g foram favorecidas. Desta forma, recomenda-se o uso de uma temperatura intermediária, como 70 °C, para a produção de suco de laranja probiótico com um máximo de células viáveis, mais também com melhores valores de A_w e T_g .

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Frutas Tropicais (INCT), ao CNPq, à CAPES e à FUNCAP pelo apoio financeiro e bolsas de estudo; ao Departamento de Agricultura dos EUA (ARS Culture Collection) pelo fornecimento da cepa de *L. casei* e ao LIBio (Laboratoire d'Ingénierie des Biomolécules, Nancy, France) pelas análises de T_g e MEV.

6. REFERÊNCIAS

- ANANTA, E.; VOLKERT, M.; KNORR, D. Cellular injuries and storage stability of spray-dried *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Int. Dairy. J.*, v. 15, n. 4, p. 399–409, 2005.
- ANEKELLA, K.; ORSAT, V. Optimization of microencapsulation of probiotics in raspberry juice by spray drying. *Food Sci. Technol.*, v. 50, n. 1, p. 17–24, 2013.
- ANTUNES, A E C et al. Acerola nectar with added microencapsulated probiotic. *Food Sci. Technol.*, v. 54, n. 1, p. 125–131, 2013.
- FUJITA, A. et al. Impact of spouted bed drying on bioactive compounds, antimicrobial and antioxidant activities of commercial frozen pulp of camu-camu (*Myrciaria dubia* Mc. Vaugh). *Food. Res. Int.*, v. 54, n. 1, p. 495–500, 2013.
- GOLOWCZYC, M. A. et al. Cellular injuries of spray-dried *Lactobacillus* spp. isolated from kefir and their impact on probiotic properties. *Int. J. Food. Microbiol.*, v. 144, n. 3, p. 556–560, 2011.
- GOULA, A. M.; ADAMOPOULOS, K. G. A new technique for spray drying orange juice concentrate. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, v. 11, n. 2, p. 342–351, 2010.
- JAYA, S; DAS, H. Effect of maltodextrin, glycerol monostearate and tricalcium phosphate on vacuum dried mango powder properties. *Journal of Food Engineering*, v. 63, n. 2, p. 125–134, 2004.
- KRISHNAIAH, D; NITHYANANDAM, R; SARBATLY, . A critical review on the spray drying of fruit extract: effect of additives on physicochemical properties. *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.*, v. 54, n. 4, p. 449–473, 2014.

PROMOÇÃO

REALIZAÇÃO

ORGANIZAÇÃO





XXI Congresso Brasileiro
de Engenharia Química

Fortaleza/CE
25 a 29 de setembro



XVI Encontro Brasileiro sobre o
Ensino de Engenharia Química
Fortaleza/CE
25 a 29 de setembro

- LAPSIRI, W.; BHANDARI, B.; WANCHAITANAWONG, P. Viability of *Lactobacillus plantarum* TISTR 2075 in different protectants during spray drying and storage. *Dry. Technol.*, v. 30, n. 13, p. 1407–1412, 2012.
- MESTRY, A. P.; MUJUMDAR, A. S.; THORAT, B. N. Optimization of spray drying of an innovative functional food: Fermented mixed juice of carrot and watermelon. *Dry. Technol.*, v. 29, n. 10, p. 1121–1131, 2011.
- NASCIMENTO, B. S. et al. Moisture Prediction During Paste Drying in a Spouted Bed. *Dry. Technol.*, v. 31, n. 15, p. 1808–1816, 2015.
- NUALKAEKUL, S.; DEEPIKA, G.; CHARALAMPOPOULOS, D.. Survival of freeze dried *Lactobacillus plantarum* in instant fruit powders and reconstituted fruit juices. *Food. Res. Int.*, v. 48, n. 2, p. 627–633, 2012.
- PEREIRA, A. L. F.; MACIEL, T. C.; RODRIGUES, S. Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with *Lactobacillus casei*. *Food. Res. Int.*, v. 44, n. 5, p. 1276–1283, 2011.
- PERRICONE, M. et al. Challenges for the production of probiotic fruit juices. *Beverages*, v. 1, n. 2, p. 95–103, 2015.
- PRISCO, A. De; MAURIELLO, G. Accepted Manuscript. *Trends. Food. Sci. Tech.*, 2016.
- TRIPATHI, M. K.; GIRI, S. K. Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *J. Funct. Foods.*, v. 9, n. 1, p. 225–241, 2014.
- WALTON, D. E. The morphology of spray-dried particles a qualitative view. *Dry. Technol.*, v. 18, n. 9, p. 1943–1986, 2000.

PROMOÇÃO



REALIZAÇÃO



ORGANIZAÇÃO

