

## IMPACTO DO NaCl NA VIABILIDADE DO PROBIÓTICO *Lactobacillus acidophilus*: COMPARAÇÃO ENTRE LIOFILIZAÇÃO E SPRAY DRYER

M.E. Wlodarkiewicz<sup>1</sup>, M., Peruzzolo<sup>2</sup>, S. V. K. Pomagerski<sup>3</sup>, G. C. Ceni<sup>4</sup>, R. L. Cansian<sup>5</sup>, G. T. Backes<sup>6</sup>

1- Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões - URI Erechim, Av. Sete de Setembro, 1621 – Bairro Fátima, Erechim - RS, 99709-910, RS/Brasil. E-mail: [mew.eduarda@gmail.com](mailto:mew.eduarda@gmail.com)

2- Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões - URI Erechim, Av. Sete de Setembro, 1621 – Bairro Fátima, Erechim - RS, 99709-910, RS/Brasil. E-mail: [marciperuzzolo@yahoo.com.br](mailto:marciperuzzolo@yahoo.com.br)

3- Curso de Medicina Veterinária - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões - URI Erechim, Av. Sete de Setembro, 1621 – Bairro Fátima, Erechim - RS, 99709-910, RS/Brasil. E-mail: [sarapomagerski@gmail.com](mailto:sarapomagerski@gmail.com)

4- Departamento de Alimentos e Nutrição Universidade Federal de Santa Maria, Palmeira das Missões UFSM - RS, Brasil E-mail: [giovana.ceni@ufsm.br](mailto:giovana.ceni@ufsm.br)

5- Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões - URI Erechim, Av. Sete de Setembro, 1621 – Bairro Fátima, Erechim - RS, 99709-910, RS/Brasil. E-mail: [cansian@uricer.edu.br](mailto:cansian@uricer.edu.br)

6- Programa de Pós-Graduação Stricto sensu em Engenharia de Alimentos - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões - URI Erechim, Av. Sete de Setembro, 1621 – Bairro Fátima, Erechim - RS, 99709-910, RS/Brasil. E-mail: [gtoniazzo@uricer.edu.br](mailto:gtoniazzo@uricer.edu.br)

**RESUMO** – Os probióticos são microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, proporcionam benefícios à saúde do hospedeiro. No entanto, condições adversas como NaCl utilizado como conservante e intensificador de sabor na produção de alimentos, pode comprometer a sobrevivência e eficácia dos probióticos. O encapsulamento é uma estratégia para proteger os microrganismos, neste sentido o objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade do *Lactobacillus acidophilus* encapsulado por liofilização e *spray dryer*, empregando como agentes encapsulantes 8g de maltodextrina, 2g de goma arábica e 1g de tween 80, frente a diferentes concentrações de cloreto de sódio (0, 3 e 6%). O encapsulamento por *spray dryer* apresentou maior redução na viabilidade, 3,43 Log UFC/g, ao longo do tempo, principalmente na concentração de 6% de NaCl, enquanto que a liofilização reduziu 2,64 Log. Esses resultados reforçam a importância de técnicas de encapsulamento e formulações adequadas para garantir a funcionalidade dos probióticos em alimentos.

**ABSTRACT** – Probiotics are live microorganisms that, when administered in adequate amounts, provide health benefits to the host. However, adverse conditions, such as NaCl used as a preservative and flavor enhancer in food production, can compromise the survival and effectiveness of probiotics. Encapsulation is a strategy to protect microorganisms. In this context, the objective of this study was to evaluate the viability of *Lactobacillus acidophilus* encapsulated by freeze-drying and spray drying, using 8g of maltodextrin, 2g of gum arabic, and 1g of Tween 80 as encapsulating agents, under different sodium chloride concentrations (0, 3, and 6%). Encapsulation by spray drying resulted in a greater reduction in viability, 3.43 Log CFU/g, over time, especially at a 6% NaCl concentration, while freeze-drying led to a reduction of 2.64 Log. These results reinforce the importance of encapsulation techniques and appropriate formulations to ensure the functionality of probiotics in food.



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

**PALAVRAS-CHAVE:** probióticos, cloreto de sódio, liofilização, *spray dryer*.

**KEYWORDS:** probiotics, sodium chloride, freeze-drying, *spray dryer*.

## 1. INTRODUÇÃO

A introdução de cepas probióticas pode promover melhorias no bem-estar geral e na saúde intestinal de humanos e animais. Entre os benefícios associados estão a melhora de condições como intolerância à lactose, câncer, alergias e doenças hepáticas, além da redução do colesterol total, o fortalecimento da resistência a infecções e a modulação positiva do sistema imunológico (Bis-Souza et al. 2020; De Souza *et al.*, 2019).

A viabilidade dos microrganismos em alimentos probióticos depende de fatores como pH, acidez, oxigênio, atividade de água, aditivos como NaCl e sacarose, temperatura, fermentação, armazenamento e processos de secagem ou congelamento (Chen *et al.*, 2023; Chugh; Kamal-Eldin, 2020). Uma solução promissora para esse desafio é a microencapsulação, uma técnica amplamente utilizada no setor alimentício para melhorar a estabilidade dos probióticos e expandir suas possibilidades de aplicação (Bampi *et al.*, 2016; Favaro- Trindade *et al.*, 2011).

Muitos materiais podem ser utilizados como agentes encapsulantes para obtenção de uma boa cobertura para a microcápsula, dentre eles a maltodextrina e a goma arábica. A maltodextrina é amplamente utilizada como material de revestimento devido à sua não toxicidade, baixo custo, boa solubilidade, baixa viscosidade mesmo com alto teor de sólidos e disponibilidade. A sua baixa capacidade de emulsificação é potencializada em combinação com outros agentes de transporte como goma arábica (Arepally *et al.*, 2020; Paula *et al.*, 2019; Premi; Sharma, 2017). A mesma é constituída principalmente por polissacarídeos de alta massa molar e seus sais. Em níveis de 1 a 10 %, a goma arábica atua como formador de filme, estabilizador de umidade (Arepally *et al.* 2020).

Entre as diferentes metodologias de microencapsulação, a técnica por *spray dryer* conhecida por muitas décadas, é muito utilizada nas indústrias farmacêutica e alimentícia. Por apresentar baixos custos na produção industrial esta técnica torna-se muito relevante para a produção de produtos probióticos secos. Entretanto, a secagem por pulverização submete o produto a altas temperaturas, o que pode levar a danos celulares (Nunes *et al.*, 2018; Tao *et al.*, 2019).

Já a liofilização é uma técnica baseada na desidratação de um produto congelado por sublimação, sendo realizado, primeiramente, um congelamento rápido do produto seguido da sublimação do gelo sob vácuo (Azeredo, 2005). Para secar probióticos encapsulados, a liofilização é uma das técnicas amplamente utilizada e é considerada como um processo de desidratação mais leve,



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

devido à capacidade de manter um alto nível de viabilidade celular. A liofilização ainda promove maior preservação a longo prazo, juntamente com a conveniência no manuseio, armazenamento, comercialização e aplicação. É um método adequado para preservação de bactérias probióticas e outros microrganismos (Chen *et al.*, 2017). Neste sentido o trabalho objetivou avaliar a viabilidade do *Lactobadllus acidophilus* (LA 02) encapsulado por liofilização e *spray dryer*, frente a diferentes concentrações de cloreto de sódio, condições consideradas estressantes para o microrganismo.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Microencapsulamento de probióticos

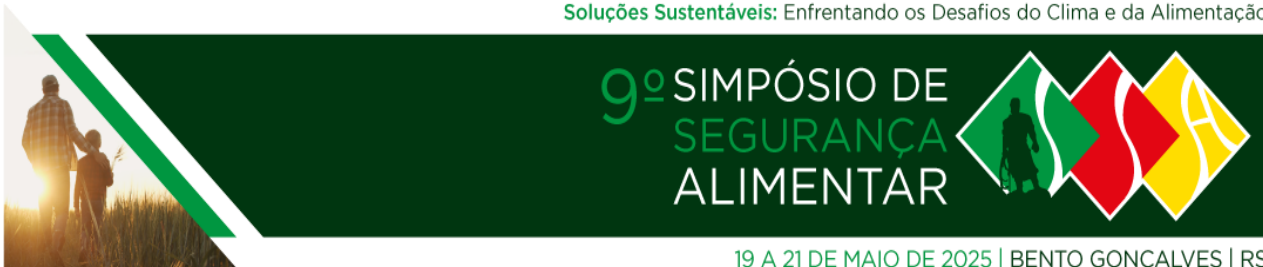
Para a pesquisa foi utilizado o *Lactobacillus acidophilus* 02 (LA02), doado pela empresa Probiotical S.p.A e armazenado a - 18 °C até o momento do uso. Para o preparo do inóculo a cultura probiótica (1 g) foi ativada em caldo De Man Rogosa and Sharpe (MRS) (Sigma-Aldrich®) (100 mL) e incubada durante 15 h a 37 °C. Após, foi centrifugada a 4670 x g por 15 min em centrífuga refrigerada (MPW – 351R) (4 °C) e lavada em solução de NaCl (0,85 % m/v) por duas vezes.

Como agentes encapsulantes foram utilizados 8 g de maltodextrina, 2 g de goma arábica e 1 g de tween 80. Os agentes encapsulantes foram dispersos, sob agitação magnética, em 100 mL de solução tampão fosfato de sódio, pH 7,0, pré-aquecida a 50 °C, até completa dissolução. As células probióticas ativadas (1 g) foram introduzidas na solução e agitadas por 10 min usando um agitador IKA® RX 20digital, a 1000 rpm (Nunes *et al.*, 2018; Arepally *et al.*, 2020).

Para a microencapsulação em *spray dryer* (Lab Plant® SD-05), com bico injetor de 0,5 mm de diâmetro, a mistura (probiótico/matriz encapsulante/solução tampão) foi bombeada a uma vazão de 0,08 mL/min, na pressão de 0,08 a 0,12 bar, na temperatura de entrada de 130 °C e temperatura de saída de 44 °C. Enquanto que para a microencapsulação em liofilizador, a mistura probiótico/matriz encapsulante/solução tampão foi congelada - 18°C e após seca em liofilizador (Edwards®), em temperatura de - 50 °C e pressão de câmara de 0,05 mbar, por período de 48 a 60 horas.

### 2.2 Viabilidade do probiótico em diferentes concentrações de cloreto de sódio.

Para avaliar a viabilidade do probiótico em condições que simulam processos na indústria alimentícia, foram testadas diferentes concentrações de cloreto de sódio (0, 3 e 6%) durante períodos de exposição de 0, 6, 12, 18 e 24 h (Bosnea *et al.*, 2014). O uso do cloreto de sódio é comum na formulação e conservação de diversos alimentos, especialmente em produtos fermentados, carnes curadas e laticínios, tornando essencial a investigação do impacto desse componente sobre a sobrevivência de microrganismos probióticos.



### 2.3 Contagem de células probióticas viáveis

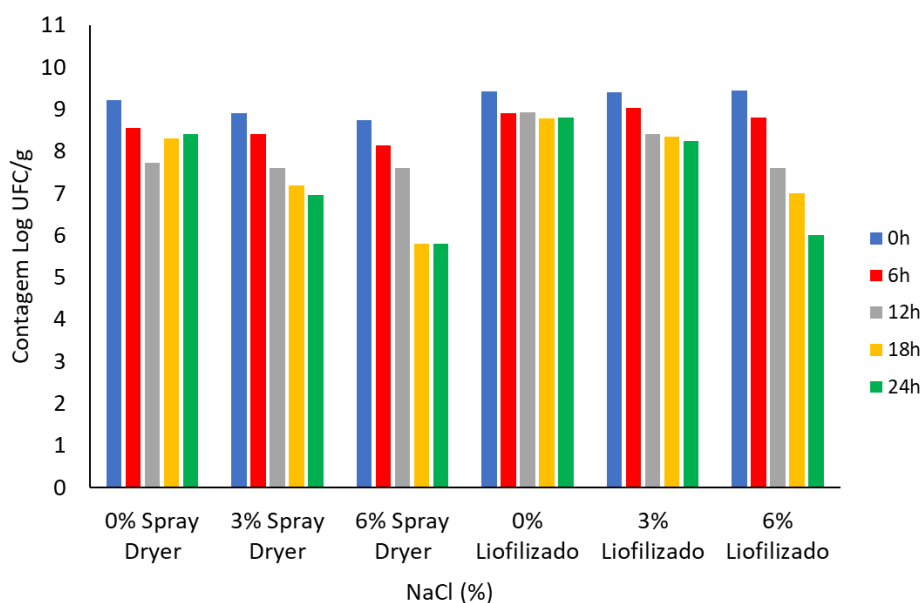
Para a contagem das células probióticas, primeiramente foram realizadas diluições seriadas, e alíquotas de 1,0 mL foram transferidas para placas de Petri para plaqueamento por profundidade. O meio utilizado foi MRS (Kasvi<sup>®</sup>), adicionado de 1% de Tween 80 (Synth<sup>®</sup>), incubadas invertidas em jarra de anaerobiose a 37 °C por 72 h. As análises foram realizadas em triplicatas e os resultados expressos em Log unidade formadora de colônia por grama (Log UFC/g).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Viabilidade em diferentes concentrações de cloreto de sódio

A Figura 1 apresenta a contagem de *L. acidophilus* LA 02 (Log UFC/g) com encapsulação por spray dryer e liofilização em diferentes concentrações de NaCl (0, 3 e 6%) por 24h de exposição.

**Figura 1-** Contagem do *L. acidophilus* (Log UFC/g) encapsulado em liofilização e *spray dryer* em diferentes concentrações de NaCl.



Observa-se que a viabilidade microbiana é maior nas amostras submetidas à liofilização em comparação com aquelas encapsuladas pelo *spray dryer*, sugerindo o método de encapsulação por liofilização preserva melhor os microrganismos. Além disso, a concentração de NaCl afeta negativamente a viabilidade, sendo essa redução mais pronunciada nas amostras tratadas com *spray dryer*, especialmente na concentração de 6% de NaCl.

A análise do comportamento das amostras ao longo do tempo indica uma redução progressiva na contagem microbiana em todas as condições avaliadas. No entanto, essa redução



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

ocorre de forma mais acentuada nas amostras processadas por *spray dryer* e com maior concentração de NaCl, evidenciando que essas variáveis impõem um maior estresse aos microrganismos. Em contrapartida, as amostras liofilizadas apresentam uma taxa de redução mais lenta, reforçando a ideia de que esse método é mais eficaz na preservação da viabilidade microbiana. O teor de NaCl em alimentos probióticos pode comprometer a viabilidade celular de culturas probióticas pela redução da atividade de água e aumento da osmolaridade (Lopes *et al.*, 2020; Sabikhiilva *et al.*, 2010).

Silva *et al.* (2018) avaliaram o efeito do NaCl nas concentrações de 3, 6 e 9% na viabilidade do probiótico *L. acidophilus* LA3 e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* livres e encapsuladas com gelatina e goma arábica. Quando expostas a uma solução de 3% as células livres, apresentaram perdas globais de 3,62% e 5,47% após 3h, enquanto os probióticos encapsulados apresentaram maior resistência, mostrando a eficácia do encapsulamento com até 9% de NaCl, apesar de ser difícil encontrar um alimento com esta concentração de sal.

#### 4 CONCLUSÃO

O estudo avaliou o impacto de diferentes concentrações de NaCl na viabilidade do *L. acidophilus* encapsulado, destacando que tanto o método de encapsulação quanto a concentração de NaCl influenciam na preservação da cultura. A liofilização mostrou-se mais eficaz que o *spray dryer*, garantindo maior estabilidade ao longo do tempo. Concentrações elevadas de NaCl comprometem a viabilidade celular, reforçando a importância do encapsulamento para minimizar esses efeitos.

#### 5 AGRADECIMENTO

Os autores agradecem ao CNPq, FAPERGS e URI pelas bolsas e apoio financeiro.

#### 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AREPALLY, D., REDDY, R. S., GOSWAMI, T. K. Encapsulation of *Lactobacillus acidophilus* NCDC 016 cells by spray drying: characterization, survival after in vitro digestion, and storage stability. **Food & Function**, vol. 11, no. 10, p. 8694–8706, 2020.

AZEREDO, H. M. C. Encapsulation: application to food technology. **Alimentos e Nutrição**. [S. l.: s. n.], 2005. p. 89–97.

BAMPI, G. B., BACKES, G. T., CANSIAN, R. L., DE MATOS, F. E., ANSOLIN, I. M. A., POLETO, B. C., COREZZOLLA, L. R., FAVARO-TRINDADE, C. S. Spray Chilling Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* and Its Use in the Preparation of Savory Probiotic Cereal Bars. **Food and Bioprocess Technology**, vol. 9, no. 8, p. 1422–1428, 5 Aug. 2016.

BIS-SOUZA, C. V., PENNA, A. L. B., DA SILVA BARRETTO, A. C. Applicability of potentially probiotic *Lactobacillus casei* in low-fat Italian type salami with added fructooligosaccharides: in vitro



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

screening and technological evaluation. **Meat Science**, vol. 168, p. 108186, Oct. 2020.

BOSNEA, L. A., MOSCHAKIS, T., BILIADERIS, C. G. Complex Coacervation as a Novel Microencapsulation Technique to Improve Viability of Probiotics Under Different Stresses. **Food and Bioprocess Technology**, vol. 7, no. 10, p. 2767–2781, 24 Oct. 2014.

CHEN, H., LI, X., LIU, B., MENG, X. Microencapsulation of *Lactobacillus bulgaricus* and survival assays under simulated gastrointestinal conditions. **Journal of Functional Foods**, vol. 29, p. 248–255, Feb. 2017.

CHEN, X., ZHANG, K., WEI, Y., WANG, Y., WU, X., WAN, H. Green tea polysaccharide conjugates and gelatin enhanced viability of *L. acidophilus* by layer-by-layer encapsulation. **Food Bioscience**, vol. 52, p. 102471, Apr. 2023.

CHUGH, B., KAMAL-ELDIN, A. Bioactive compounds produced by probiotics in food products. **Current Opinion in Food Science**, vol. 32, p. 76–82, Apr. 2020.

DE SOUZA, B. M. S., BORGONOV, T. F., CASAROTTI, S. N., TODOROV, S. D., PENNA, A. L. B. *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus fermentum* Strains Isolated from Mozzarella Cheese: Probiotic Potential, Safety, Acidifying Kinetic Parameters and Viability under Gastrointestinal Tract Conditions. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, vol. 11, no. 2, p. 382–396, 14 Jun. 2019.

FAVARO-TRINDADE, C. S.; HEINEMANN, R. J. B.; PEDROSO, D. L. Developments in probiotic encapsulation. **CABI Reviews**, , p. 1–8, 9 Mar. 2011.

LOPES, A. A. L., DE SIQUEIRA F. C. R., STELA S. M. N., SUELY M. M., JULIA A. A. A., A., ARAÚJO P. I., EDUARDO B. C., COLOMBO P. T. MAGNANI, M., CHRISTINA M. S. T. Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* La-05 and incorporation in vegan milks: Physicochemical characteristics and survival during storage, exposure to stress conditions, and simulated gastrointestinal digestion. **Food Research International**, vol. 135, p. 109295, Sep. 2020.

NAISSINGER DA SILVA, M., TAGLIAPIETRA, B. L., FLORES, V. do A., PEREIRA DOS SANTOS R. N. S. In vitro test to evaluate survival in the gastrointestinal tract of commercial probiotics. **Current Research in Food Science**, vol. 4, p. 320–325, 2021.

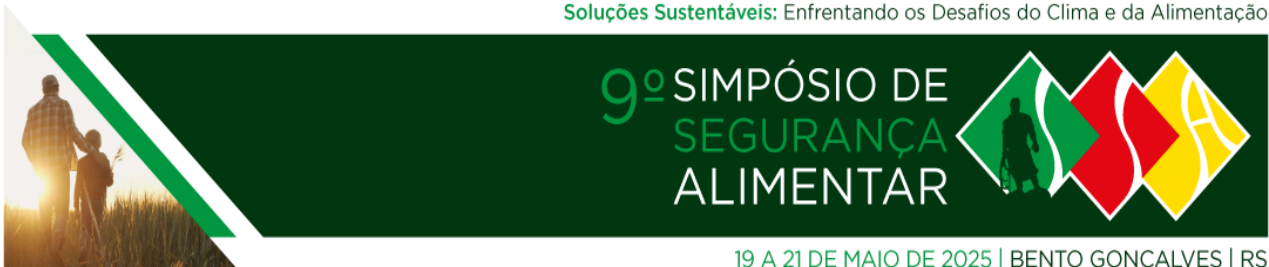
NUNES, G. L., ETCHEPARE, M. de A., CICHOSKI, A. J., ZEPKA, L. Q., JACOB L. E., BARIN, J. S., FLORES, É. M. de M., DA SILVA, C. de B., DE MENEZES, C. R. Inulin, hi-maize, and trehalose as thermal protectants for increasing viability of *Lactobacillus acidophilus* encapsulated by spray drying. **LWT**, vol. 89, p. 128–133, Mar. 2018.

PAULA, D. de A., MARTINS, E. M. F., COSTA, N. de A., DE OLIVEIRA, P. M., DE OLIVEIRA, E. B., RAMOS, A. M. Use of gelatin and gum arabic for microencapsulation of probiotic cells from *Lactobacillus plantarum* by a dual process combining double emulsification followed by complex coacervation. **International Journal of Biological Macromolecules**, vol. 133, p. 722–731, Jul. 2019.

PREMI, M., SHARMA, H. K. Effect of different combinations of maltodextrin, gum arabic and whey protein concentrate on the encapsulation behavior and oxidative stability of spray dried drumstick (*Moringa oleifera*) oil. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 105, p. 1232–1240, 2017.

SABIKHI, L., BABU, R., THOMPSON, D. K., KAPILA, S. Resistance of Microencapsulated *Lactobacillus acidophilus* LA1 to Processing Treatments and Simulated Gut Conditions. **Food and Bioprocess Technology**, vol. 3, no. 4, p. 586–593, 28 Aug. 2010.

SILVA, M. P., TULINI, F. L., MATOS-JR, F. E., OLIVEIRA, M. G., THOMAZINI, M., FÁVARO-TRINDADE, C. S. Application of spray chilling and electrostatic interaction to produce lipid



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

microparticles loaded with probiotics as an alternative to improve resistance under stress conditions. **Food Hydrocolloids**, vol. 83, p. 109–117, Oct. 2018.

TAO, T., DING, Z., HOU, D., PRAKASH, S., ZHAO, Y., FAN, Z., ZHANG, D., WANG, Z., LIU, M., HAN, J. Influence of polysaccharide as co-encapsulant on powder characteristics, survival and viability of microencapsulated *Lactobacillus paracasei* Lpc-37 by spray drying. **Journal of Food Engineering**, vol. 252, p. 10–17, Jul. 2019.