

# ENCAPSULAÇÃO DE PROBIÓTICO EM MATRIZ DE ALGINATO COM POLPA DE COCO VERDE

Helena Prado Guimarães<sup>1</sup>; Cynthia Jurkiewicz Kunigk<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Aluna de Iniciação Científica da Escola de Engenharia Mauá (EEM/CEUN-IMT);

<sup>2</sup> Professora da Escola de Engenharia Mauá (EEM/CEUN-IMT).

**Resumo.** *A crescente necessidade de aproveitar resíduos da indústria alimentícia como matérias-primas para o desenvolvimento de novos produtos, aliado ao aumento da procura por alimentos mais saudáveis, que tragam benefícios aos consumidores, são demandas que têm se tornado cada vez maior. Considerando esses temas atuais, o presente estudo teve como objetivo avaliar o uso da polpa do coco verde, que é um descarte comum no Brasil, para a encapsulação da bactéria probiótica, *Bifidobacterium animalis* BB-12. O microrganismo foi encapsulado em alginato de cálcio com polpa de coco verde pelo método de extrusão e sua sobrevivência foi avaliada durante o período de 29 dias em refrigeração. A polpa de coco verde não influenciou significativamente ( $p > 0,05$ ) as contagens de *Bifidobacterium* nas cápsulas úmidas, congeladas ou liofilizadas, quando comparado com os resultados obtidos com as cápsulas sem a polpa. Durante o armazenamento a população do microrganismo nas cápsulas liofilizadas sem polpa de coco apresentou redução significativa ( $p < 0,05$ ) a partir do vigésimo segundo dia, enquanto naquelas com polpa, as contagens permaneceram constantes ( $p < 0,05$ ). Os resultados indicam que a polpa de coco verde poderia ser utilizada em combinação com alginato para encapsulação de probióticos.*

## Introdução

O coqueiro (*Cocos nucifera* L.) apresenta origem controversa, porém a hipótese mais aceita é que tenha sido no Sudeste Asiático, entre os oceanos Pacífico e Índico a mais de 15 milhões de anos. Com o passar dos anos, foi introduzido na Índia e no leste africano, e com a descoberta do Cabo da Boa Esperança se espalhou para todas as regiões tropicais do globo. Seu primeiro registro no Brasil foi em 1553 na Bahia, pelos portugueses, com a variante coqueiro-gigante. Já o coqueiro-anão foi introduzido apenas em 1924, também no nordeste do país, onde até os dias atuais, se concentra a maior parte da produção (EMBRAPA, 2006).

O coqueiro é uma planta essencialmente tropical, que encontra condições favoráveis ao seu desenvolvimento entre as latitudes 20° N e 20° S. Além disso, requer um clima quente e úmido, sem grandes variações de temperatura, com uma média anual em torno de 27 °C, com oscilações máximas diárias entre 5 e 7°C. Temperaturas inferiores a 15 °C podem provocar distúrbios fisiológicos como o retardamento da germinação, a redução na porcentagem de sementes germinadas e prejudicar o desenvolvimento da plântula (PASSOS; CONCEIÇÃO; MAIA, 2018).

O cultivo de coco no Brasil apresenta duas realidades bem diferentes. De um lado, têm-se os plantios destinados à produção de coco-seco, que geram uma rentabilidade bastante baixa, limitando a expansão dessa atividade. Por outro lado, a produção de coco-verde tem grande incentivo devido ao mercado crescente para água de coco (TEIXEIRA, 2005).

A água-de-coco começa a se formar a partir do segundo mês após a abertura da inflorescência e alcança seu volume máximo entre 6 e 8 meses, período este recomendado para a sua colheita (RESENDE *et al.*, 2002). Entretanto, em função da região de cultivo, o período de colheita pode sofrer variações. No estudo realizado com frutos de coqueiro anão cultivados em Bebedouro, SP, o maior volume de produção de alúmen líquido, com sabor adequado, foi verificado com 8,5 meses após a abertura da inflorescência, sendo neste caso, a melhor época para a colheita de frutos para o consumo in natura da água-de-coco. Nesses frutos, a água-de-coco correspondeu a 18,7 %, o alúmen sólido a 3,3 %, e o epicarpo, fibra e endocarpo, totalizaram 78,0 % da massa total do fruto (BENASSI *et al.*, 2007). O volume de água de coco no interior do

fruto reduz com o amadurecimento, já que é transformado em polpa branca comestível, que é utilizada em vários produtos na indústria (SOARES, 2014).

O valor nutricional da polpa (albúmen sólido) varia conforme seu estado de maturação. À medida que amadurece, aumenta seu teor de gorduras, aumentando suas calorias. Além disso, é rico em proteínas, carboidratos, vitaminas (A, B1, B2, B5 e C), e sais minerais, principalmente o potássio (SOARES, 2014; SOARES *et al.*, 2015). A composição da polpa de coco verde de frutos colhidos entre 6 e 7 meses de plantio em diferentes regiões do Brasil está apresentada na Tabela 1. Como pode ser observado, as composições dos albumens sólidos apresentam grande variações, o que é justificado pelas características geográfica de cada região, como índices de pluviosidade, temperatura e umidade. A menor variação é verificada para o teor de gordura, com coeficiente de variação de 0,71 %, enquanto o de carboidratos foi o maior, com 3,22 %.

Tabela1 Composição da polpa do coco verde em função do local de cultivo

Composição (%)	Souza, PB (Santana, 2012)	São Luís, MA (Leal <i>et al.</i> , 2013)	Rio de Janeiro, RJ (Teixeira <i>et al.</i> , 2016)	Rio Branco, AC
Umidade	92,7	82,76	89,74	90,2
Cinzas	0,75	0,77	0,85	4,5
Gordura	1,57	1,16	2,46	1,6
Proteínas	0,83	3,18	1,32	1,7
Carboidratos	4,15	12,13	5,63	2,0

No Brasil, segundo dados de 2010, são descartados cerca de 7 milhões de toneladas de resíduos de coco por ano, provenientes do consumo da água, que em grande parte, se acumulam em praias e em aterros, com tempo médio de decomposição de aproximadamente 12 anos (MARTINS; JESUS JUNIOR, 2011).

Em um estudo mais recente foi constatado que para cada coco consumido no Brasil são gerados cerca de 1,5 kg de casca, resultando em mais de 3 milhões de toneladas por ano (NUNES *et al.*, 2020). Os autores realizaram o mapeamento do descarte da casca de coco verde proveniente do consumo da água de coco, no sul da costa do estado da Bahia. Quanto ao material utilizado para descarte das cascas, cerca de 60 % dos locais de venda analisadas utilizavam sacolas de plástico, 26 % barris de plástico e 9 % cestas de lixo. Em nenhum dos locais avaliados a casca era aproveitada, já que o seu destino era a lixeira, ou simplesmente as ruas. Além disso, nenhuma das cidades analisadas possuía qualquer tipo de planejamento para descarte de produtos, como a reciclagem. Embora esses resíduos, principalmente a casca do coco apresente grande potencial de aplicação em diversas áreas, no Brasil faltam políticas públicas que incentivem pesquisas e ações para a redução desse impacto ambiental (DOS SANTOS; MARTINEZ; JUIZ, 2019).

O principal resíduo proveniente do consumo da água de coco é a casca, que consiste principalmente da fibra ou mesocarpo. Entretanto, a polpa também é normalmente descartada juntamente com a casca após o consumo da água de coco (IGUTTI *et al.*, 2011).

Estudos mostram que a polpa do coco verde pode ser utilizada em produtos da indústria de alimentos, como salgadinhos tipo snacks secos, sorvetes com baixo teor de gorduras, pães, e em formulação de mousse e pudim (IGUTTI *et al.*, 2011; PRIETO; IGUTTI; NITZ, 2011; SANTANA, 2012; LOPES *et al.*, 2019).

Uma alimentação saudável que atenda às necessidades nutricionais do consumidor e resulte na prevenção de possíveis doenças crônicas não transmissíveis tem se tornado um assunto de grande interesse para pesquisadores nas áreas de nutrição, engenharia e tecnologia de alimentos, assim como para as indústrias de ingredientes e produtos alimentícios. Dessa forma, cada vez mais, aumenta o interesse dos consumidores por produtos probióticos e prebióticos (SOUZA, 2015).

O conceito de probiótico não é algo novo, na verdade, eles são consumidos pelo ser humano na forma de alimentos fermentados há milhares de anos (KOPP-HOOLIHAN, 2001). Porém, foi apenas em 1907 que o cientista russo Elie Metchnikoff propôs oficialmente o conceito de probiótico

que é conhecido atualmente. Ele observou que o consumo em grande quantidade de leite fermentado contendo lactobacilos prolongava a vida e apresentou a primeira explicação científica para os efeitos benéficos do ácido láctico das bactérias presentes no leite fermentado (RAŠIĆ, 2003).

A definição de probiótico é internacionalmente aceita como “microrganismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro” (JUIZ *et al.*, 2017). Lactobacilos e Bifidobactérias são os gêneros de probióticos mais estudados e utilizados como ingredientes funcionais (SAAD; CRUZ; FARIA, 2011). Esses atuam sobre a microbiota intestinal, conferindo benefícios à saúde, promovendo o aumento no número de bactérias benéficas, favorecendo a defesa do organismo do hospedeiro (PUUPPONEN-PIMIÄ *et al.*, 2002).

Dentre os benefícios clinicamente comprovados atribuídos ao consumo de probióticos destacam-se: melhoria no sistema imunológico, controle da infecção intestinal, controle no nível de colesterol, redução da intolerância à lactose, alívio na constipação gastrointestinal e ação anticarcinogênica (MARTIN *et al.*, 2013). Segundo SANDERS *et al.* (2013), há duas vertentes quanto aos benefícios à saúde ao ingerir um probiótico: manutenção da saúde, medido através da redução da incidência de doenças comuns e infecciosas, redução dos riscos de alergia, melhora da função intestinal; ou o tratamento de doenças como síndrome do intestino irritável, diarreia infecciosa, enterocolite necrosante, entre outras.

Para que um alimento seja considerado probiótico é necessário conter na porção diária no mínimo  $10^6$  a  $10^7$  UFC/mL ou UFC/g (CHAIKHAM, 2015), já que a dose terapêutica mínima para proporcionar benefícios funcionais é de  $10^8$  a  $10^9$  células viáveis por dia (ALBERTINI *et al.*, 2010). Para que essa contagem seja obtida é necessário avaliar os fatores que influenciam a sobrevivência dessas bactérias, como o pH, a presença de ácido, a existência ou não de oxigênio, a atividade de água, a concentração de sal, açúcar e compostos químicos como peróxidos, e a temperatura a qual o alimento será submetido (TRIPATHI; GIRI, 2014).

Para auxiliar a ação das bactérias benéficas no organismo, sua junção com ingredientes prebióticos é importante (RANADHEERA; BAINES; ADAMS, 2009). Os prebióticos são caracterizados internacionalmente como “ingredientes seletivamente fermentáveis que permitem modificações específicas na composição e/ou na atividade da microbiota gastrointestinal que resultam em benefícios ao bem-estar e à saúde do hospedeiro” (ROBERFROID, 2007; WANG, 2009). A ingestão de prebióticos estimula a fermentação das bactérias residentes no intestino, o que melhora a atividade das populações de bactérias desejáveis no cólon (WANG, 2009). Os mais utilizados na indústria de alimentos são os fruto-oligossacarídeos, a inulina, os isomalto-oligossacarídeos, os glico-oligossacarídeos e os transgalacto-oligossacarídeos (SAAD, CRUZ, FARIA, 2011).

A ingestão de probióticos é comumente feita através de leites fermentados, porém hoje em dia há uma grande tendência de mercado voltada para sua adição em diferentes grupos de alimentos ou até mesmo via uso de cápsulas. Esse novo uso pode gerar uma diminuição na eficácia dos probióticos, fazendo com que a procura por novos métodos de proteger as bactérias em determinados alimentos e nas etapas do sistema gastrointestinal seja urgente (RANADHEERA; BAINES; ADAMS, 2010).

A fim de preservar as propriedades e melhorar o desempenho de alguns ingredientes, a indústria de alimentos tem utilizado a tecnologia de microencapsulação. Esse é um processo que empacota materiais sólidos, líquidos ou gasosos em cápsulas extremamente pequenas, as quais liberam o conteúdo de forma controlada e sob condições específicas. Essas microcápsulas podem apresentar tamanho na faixa de nanômetros até vários micrômetros, possuindo diferentes formas, dependendo dos materiais e métodos utilizados em sua preparação. Esta técnica pode ser utilizada para estabilização do material encapsulado, controle de reações oxidativas, para a liberação controlada do ingrediente no organismo, para mascarar sabores, cores ou odores indesejáveis, e proteger microrganismos probióticos (FAVARO-TRINDADE, PINHO, ROCHA, 2008).

Dentre as técnicas utilizadas para encapsular probióticos pode-se citar: extrusão, atomização ou spray-drying, leite fluidizado ou spray coating, emulsão, coacervação, imobilização em gordura

e em grânulos de amido (SAAD, CRUZ, FARIA, 2011). A extrusão, ou gelificação iônica, é a técnica de microencapsulação de probióticos mais usada, por ser simples, de baixo custo e não empregar altas temperaturas. Esse método envolve o preparo de uma solução hidrocolóide, como alginato de sódio, na qual são adicionados os microrganismos. A extrusão é realizada pelo gotejamento da solução de hidrocolóide em uma solução de endurecimento, como o cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ) (KRASAEKOOPT; BHANDARI; DEETH, 2003).

Considerando a importância que os probióticos têm para a saúde do corpo humano, a dificuldade de manter sua viabilidade em alimentos não lácteos, e a necessidade crescente de reduzir os resíduos gerados durante o processamento de alimentos, esse trabalho teve como objetivo aproveitar a polpa do coco verde que seria descartada na extração da água de coco, para encapsular a bactéria probiótica *Bifidobacterium animalis* e analisar a sua sobrevivência em um período de 28 dias.

## Material e Métodos

Nesta sessão estão descritos os procedimentos e os materiais utilizados no desenvolvimento do trabalho.

### *Polpa do coco verde*

A polpa do coco verde foi extraída na planta piloto de alimentos do Instituto Mauá de Tecnologia e adicionada de 1,0 % de solução de ácido ascórbico. A polpa foi armazenada em sacos aluminizados e congelada a  $-18^\circ\text{C}$  até o momento de sua utilização.

### *Microrganismo probiótico*

A cultura probiótica comercial liofilizada, *Bifidobacterium animalis* BB-12 (Chr. Hansen), armazenada a  $-18^\circ\text{C}$ , foi utilizada no desenvolvimento deste trabalho.

### *Preparo da suspensão concentrada de células de Bifidobacterium animalis*

Para a ativação da cultura de *Bifidobacterium animalis* BB-12 foi seguida a metodologia usada por SOUZA (2015), 0,1 g da cultura foi adicionado em um saco estéril com 100 mL de solução salina 0,85 %. Essa suspensão foi homogeneizada no Stomacher® 400 (Seward) com agitação de 260 rpm por 2 minutos. Em seguida, 10 mL foram diluídos em 90 mL de solução salina 0,85% estéril e novamente homogeneizados nas mesmas condições anteriores. Finalizado esse processo, 1 mL dessa diluição foi transferido para frascos contendo 99 mL de caldo MRS estéril suplementado com 0,5 mL de cisteína 10 % filtrada e incubado a  $37^\circ\text{C}$  por 20 horas. Após o período de incubação, tempo necessário para que o crescimento atingisse a fase estacionária e a população final fosse  $10^9$  UFC/mL, o meio com crescimento foi transferido para tubos de fundo redondo de 50 mL e centrifugados (Centrífuga Mega 21R – Hanil) por 15 minutos a  $4^\circ\text{C}$  em uma velocidade de 6000 rpm. Ao final desse processo, o sobrenadante foi descartado e foram adicionados 2 mL de solução salina 0,85% estéril para lavagem do sedimento de células. A suspensão de cada tubo foi homogeneizada em agitador tipo vortex e transferida para um único tubo. Para a lavagem dos tubos foram utilizados mais 2 mL solução salina 0,85%. O tubo final contendo todas as células foi novamente centrifugado nas mesmas condições anteriores. Após o descarte do sobrenadante, foram adicionados 20 mL de polpa de coco verde ou de solução salina estéril 0,85%.

### *Encapsulação*

Para o processo de encapsulação foi utilizada a técnica de extrusão, conforme descrito por SOUZA (2015), com algumas alterações. Para isso, 20 mL da suspensão de células em polpa de coco foram adicionados em 120 mL de polpa de coco verde e 60 mL de solução de alginato de sódio 3,7%. Para a amostra sem polpa, 20 mL da suspensão de células em solução salina 0,85% foram adicionados em 180 mL de solução de alginato de sódio 1,2%.

Após a sanitização do bico aspersor de um furo de 1,0 mm e da mangueira de silicone com solução de ácido peracético (0,35 g/L) e enxague com solução salina 0,85% estéril, a suspensão de alginato com microrganismo foi bombeada através de um bico aspersor, com o auxílio de uma bomba peristáltica na vazão de 11,6 mL/min e ar comprimido na vazão 4,5 L/min e 3,5 L/min, para as amostras com e sem polpa de coco, respectivamente. A suspensão aspergida foi recolhida em uma solução de cloreto de cálcio 0,1 M estéril que permaneceu em constante agitação, com o auxílio de um agitador magnético, até 30 minutos após o término do processo.

Para a retirada das cápsulas da solução de cloreto de cálcio 0,1 M estéril, foram utilizadas peneiras granulométricas esterilizadas de aço inoxidável (Abrozinox) com aberturas de malha de 250, 500, 710 e 1000  $\mu\text{m}$ .

### *Liofilização*

As cápsulas as retidas na peneira de 250  $\mu\text{m}$  foram descartadas, já as retidas nas peneiras de 500, 710 e 1000  $\mu\text{m}$  permaneceram no congelador a  $-18^{\circ}\text{C}$  por 12 horas e em seguida foram levadas para o Liofilizador Enterprise I (Terroni) por 30 horas, com potência da resistência de 650 W, pressão inicial de 372 mmHg e pressão final de 172 mmHg. Terminado o processo de liofilização, as cápsulas foram armazenadas em sacos de plástico na geladeira a  $4^{\circ}\text{C}$  até o momento das análises.

### *Análises microbiológicas*

As análises microbiológicas foram feitas com base no trabalho de SOUZA (2015) para contagem de *Bifidobacterium animalis* no inóculo, nas cápsulas refrigeradas e nas cápsulas congeladas com e sem polpa após o primeiro dia de armazenamento. Para as cápsulas liofilizadas as análises foram feitas após o término do processo e armazenamento a  $4^{\circ}\text{C}$ , por 1, 8, 15, 22 e 29 dias.

Para o inóculo com e sem polpa, 0,2 g foram adicionados a um saco estéril com 200 mL de solução salina 0,85% estéril e homogeneizada Stomacher@400 (Seward) a 260 rpm por 30 segundos, em seguida foram realizadas as diluições decimais subsequentes.

Para as cápsulas refrigeradas, congeladas e liofilizadas com e sem polpa de coco verde, 0,2 g de amostra foram adicionados a um saco estéril junto com 200 mL de solução tampão fosfato pH 7,5 e homogeneizada em Stomacher@400 (Seward) a 260 rpm por 12 minutos, e em seguida foram realizadas as diluições decimais subsequentes em solução salina 0,85 % estéril.

Alíquotas de 1 mL das amostras diluídas foram transferidas para placas de Petri, em duplicata, e foram adicionados cerca de 15 mL de meio de cultura MRS Agar enriquecido com 0,5% de solução de cisteína a 10 %, esterilizada por filtração. As placas foram incubadas em jarra de anaerobiose com gerador (Anaerogen) a  $37^{\circ}\text{C}$  por 72 horas e em seguida foram determinados o número de unidades formadoras de colônias.

### *Análise estatística*

Para a avaliação da influência da polpa de coco e do tempo de armazenamento na sobrevivência de *Bifidobacterium animalis* encapsulado, as contagens em UFC/g foram convertidas em Log UFC/g e a análise de variância (ANOVA). O teste de Tukey foi utilizado para comparação de médias. A análise estatística foi realizada no software Minitab, versão 19, considerando um nível de significância de 5 %.

## **Resultados e Discussão**

Nas Figuras 1 e 2 estão apresentadas as imagens das cápsulas antes e depois do processo de liofilização, respectivamente em um microscópio óptico. É possível observar que antes do congelamento e liofilização as cápsulas apresentaram uma forma esférica e superfície uniforme, com diâmetro por volta de 650  $\mu\text{m}$ , já após a liofilização apresentou formato disforme com diâmetro de aproximadamente 450  $\mu\text{m}$ . Esse fenômeno se deu possivelmente devido ao processo de congelamento lento, que ao formar cristais de gelo grandes, expande seu volume rompendo a parede

do alginato, e com isso, a água ao ser sublimada no liofilizador torna o formato das cápsulas irregular.

Figura 1 - Cápsulas antes da liofilização

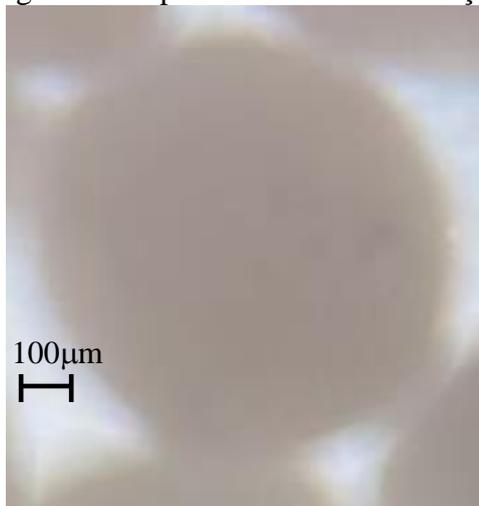
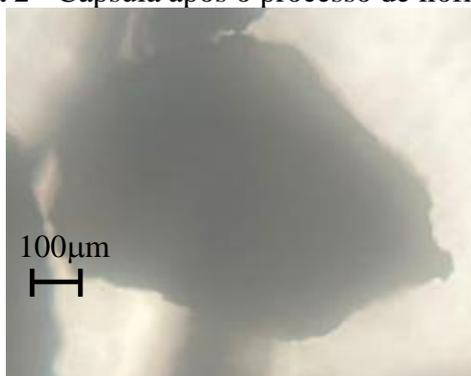


Figura 2 - Cápsula após o processo de liofilização

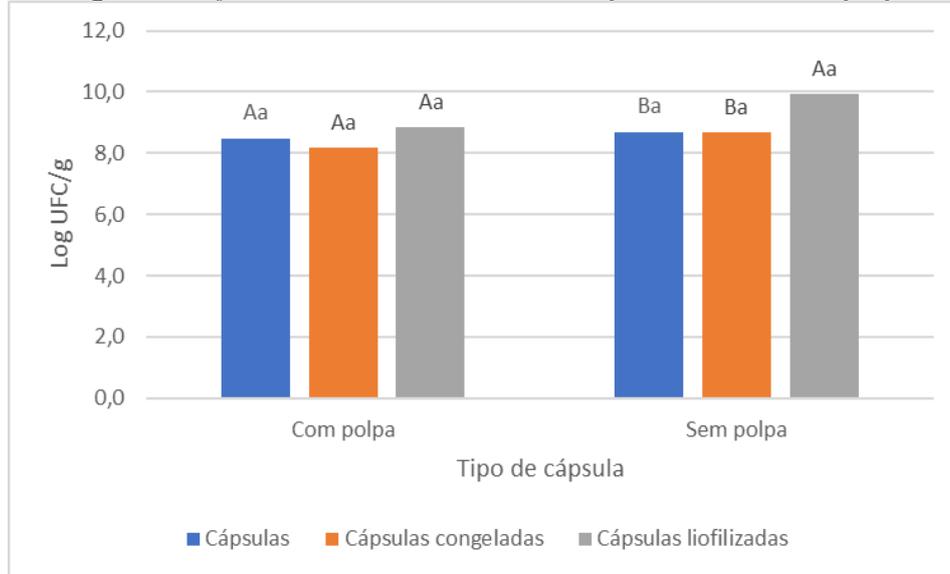


A Tabela 1 apresenta os resultados das contagens de *Bifidobacterium animalis* BB-12 em Log UFC/g nas amostras de inóculo, cápsulas, cápsulas congeladas, e cápsulas liofilizadas durante 29 dias de armazenamento em refrigeração.

Tabela 1 – Contagens de *Bifidobacterium animalis* (Log UFC/g de amostra)

Amostra	Com polpa (Log UFC/g)	Sem polpa (Log UFC/g)
Inóculo	9,61 ± 0,06	9,37 ± 0,05
Cápsulas	8,48 ± 0,03	8,70 ± 0,19
Cápsulas congeladas	8,19 ± 0,18	8,68 ± 0,42
Cápsulas liofilizadas (CL)	8,83 ± 0,51	9,94 ± 0,12
CL – T8	8,71 ± 0,08	9,52 ± 0,73
CL – T15	8,91 ± 0,06	8,82 ± 0,69
CL – T22	8,62 ± 0,40	8,02 ± 0,16
CL – T29	8,70 ± 0,45	7,99 ± 0,11

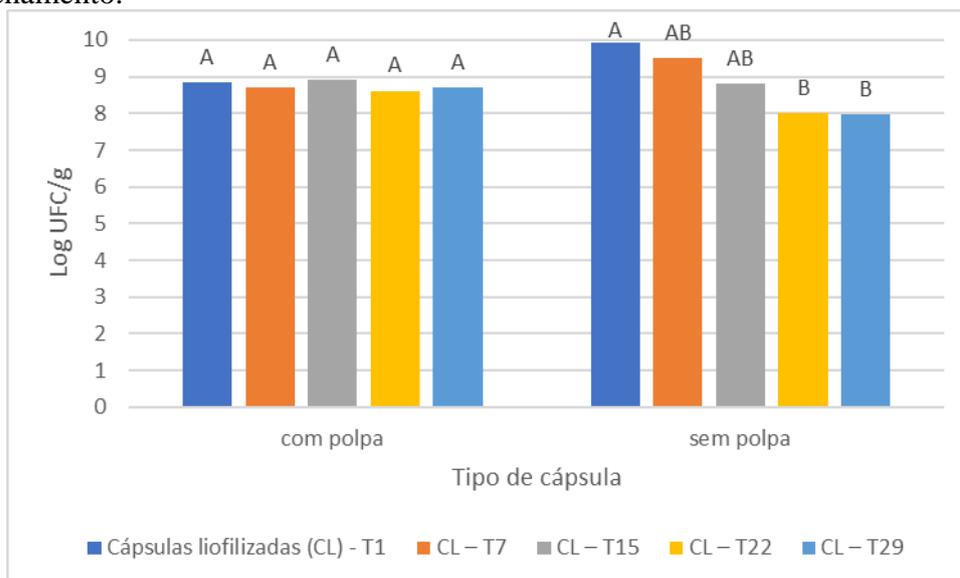
Figura 3 - Contagem de *Bifidobacterium animalis* nas cápsulas com e sem polpa de coco verde



"A", "B" - médias que não compartilham uma letra maiúscula igual, para o mesmo tipo de cápsula, são significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ); "a" médias que não compartilham uma letra minúscula igual para diferentes etapas do processo de refrigeração, congelamento e encapsulação são significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 1 e Figura 3, verifica-se que as contagens de *B. animalis* nas cápsulas com polpa de coco (8,5 Log UFC/g) e sem (8,7 Log UFC/g), não diferiram significativamente ( $p > 0,05$ ). Após o congelamento as contagens também não diferiram significativamente ( $p > 0,05$ ), mostrando que a bactéria resistiu bem ao processo lento de congelamento. Após a liofilização, a população de probiótico aumentou significativamente ( $p < 0,05$ ) nas cápsulas sem polpa (1,3 log), mas a variação nas cápsulas com polpa (0,6 Log) não foi significativa ( $p > 0,05$ ). O aumento na contagem após a liofilização é justificado pela redução de cerca de 95 % da massa de cápsulas pelo processo de desidratação.

Figura 4 - Sobrevivência de *Bifidobacterium animalis* nas cápsulas liofilizadas durante o armazenamento.



"A", "B" médias que não compartilham uma letra igual para o mesmo tipo de cápsula são significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

Durante o armazenamento, observa-se na Tabela 1 e Figura 4 que as amostras contendo polpa de coco verde não apresentaram variação significativa na população de probiótico durante os 29 dias em refrigeração. Já para as amostras sem polpa de coco, a redução foi significativa ( $p < 0,05$ ) a partir do vigésimo segundo dia armazenamento, indicando que a polpa de coco auxiliou a sobrevivência da bactéria.

A maior sobrevivência do probiótico nas cápsulas com polpa pode ser explicada pela presença de proteínas e gordura que diminuem a porosidade da cápsula além de proporcionar uma barreira adicional para proteção da bactéria às condições adversas do meio externo, como a presença de oxigênio.

Resultados semelhantes ao verificado no presente estudo foi relatado por PRASANNA e CHARALAMPOPOULOS (2018), que encapsularam *Bifidobacterium longum* em matriz de alginato com leite de vaca e de cabra. As concentrações iniciais do probiótico também foram próximas de 9 Log UFC/g e a sobrevivência da bactéria após 28 dias de armazenamento refrigerado foi maior quando o leite foi adicionado ao alginato. Entretanto, em comparação com a bactéria livre, as contagens do microrganismo encapsulado foram superiores, mostrando que o uso do método de encapsulação por extrusão causou impacto positivo.

Outro ponto a ser destacado é que a acidificação da polpa de coco com ácido ascórbico para impedir seu escurecimento, e a consequente redução do pH para 4,16, não prejudicou a sobrevivência de *Bifidobacterium animalis*.

Considerando a aplicação do microrganismo encapsulado em um alimento, a adição de 2 % das cápsulas com polpa de coco, resultaria em um produto probiótico com mais de  $10^7$  UFC/g, contagem considerada adequada para que as bactérias possam desempenhar suas funções e agregar benefícios ao ser humano CHAIKHAM (2015).

## Conclusões

A utilização da polpa do coco verde não influenciou na sobrevivência da bactéria *Bifidobacterium animalis* durante os processos de produção, congelamento e liofilização. Entretanto, seu uso causou impacto positivo durante o armazenamento das cápsulas liofilizadas.

Para que os resultados desse trabalho pudessem ser mais conclusivos, novos estudos seriam necessários, para acompanhamento da sobrevivência do probiótico por períodos mais longos de tempo.

## Referências Bibliográficas

- ALBERTINI, Beatrice; VITALI, Beatrice; PASSERINI, Nadia; CRUCIANI, Federica; DI SABATINO, Marcello; RODRIGUEZ, Lorenzo; BRIGIDI, Patrizia. Development of microparticulate systems for intestinal delivery of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis*. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, [S. l.], v. 40, n. 4, p. 359–366, 2010. DOI: 10.1016/J.EJPS.2010.04.011.
- BENASSI, Antonio Carlos; RUGGIERO, Carlos; MARTINS, Antonio Baldo Geraldo; DA SILVA, José Antonio Alberto. Caracterização biométrica de frutos de coqueiro, *Cocos nucifera* L. variedade anã-verde, em diferentes estádios de desenvolvimento. *Revista Brasileira de Fruticultura*, [S. l.], v. 29, n. 2, p. 302–307, 2007. DOI: 10.1590/S0100-29452007000200022.
- CHAIKHAM, Pittaya. Stability of probiotics encapsulated with Thai herbal extracts in fruit juices and yoghurt during refrigerated storage. *Food Bioscience*, [S. l.], v. 12, p. 61–66, 2015. DOI: 10.1016/J.FBIO.2015.07.006.
- DOS SANTOS, Djane Encarnação; MARTINEZ, Felipe Carlos Carvalho; JUIZ, Paulo José Lima. A Fibra de Coco como Matéria-Prima para o Desenvolvimento de Produtos: uma prospecção tecnológica em bancos de patentes. *Cadernos de Prospecção*, [S. l.], v. 12, n. 1, p. 153, 2019. DOI: 10.9771/cp.v12i1.27230. Disponível em: <https://periodicos.ufba.br/index.php/nit/article/view/27230>.

- EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Coleção plantar: A cultura do coco. 1. ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2006.
- FAVARO-TRINDADE, C. S.; PINHO, S. C.; ROCHA, G. A. Revisão: Microencapsulação de ingredientes alimentícios. *Brazilian Journal of Food Technology*, [S. l.], v. 11, n. p.103-112, 2008.
- IGUTTI, A. M.; PEREIRA, A. C. I.; FABIANO, L.; SILVA, R. A. F.; RIBEIRO, E. P. Substitution of ingredients by green coconut (*Cocos nucifera* L) pulp in ice cream formulation. *Procedia Food Science*, [S. l.], v. 1, p. 1610–1617, 2011. DOI: 10.1016/j.profoo.2011.09.238. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2211601X11002392>.
- JUIZ, Paulo José Lima; RIBEIRO, Brenda Karem Abreu; PASSOS, Rebeca Araújo. O estado da arte sobre a atividade antimicrobiana e imunomoduladora de probióticos. *Brazilian Journal of Food Research*, [S. l.], v. 8, n. 3, p. 141, 2017. DOI: 10.3895/rebrapa.v8n3.3971.
- KOPP-HOOLIHAN, Lori. Prophylactic and therapeutic uses of probiotics: A review *Journal of the American Dietetic Association*, 2001. DOI: 10.1016/S0002-8223(01)00060-8.
- KRASAEKOOPT, Wunwisa; BHANDARI, Bhesh; DEETH, Hilton. Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. *International Dairy Journal*, [S. l.], v. 13, n. 1, p. 3–13, 2003. DOI: 10.1016/S0958-6946(02)00155-3.
- LEAL, R.C. (UFMA); BARROS, L.R. (UFMA); MOUCHREK FILHO, V.E. (UFMA); MENDES FILHO, N.E. (UFMA); EVERTON, P.C. (UFMA); LUZ, D. A. (UFMA). Estudo Físico-Químico da Polpa De Coco Verde (*Cocos nucifera* L.) in Natura, Comercializado em Praias de São Luís-MA. 2013. [S. l.], 2013. Disponível em: <http://www.abq.org.br/cbq/2013/trabalhos/10/3308-16036.html>.
- LOPES, Caroline Brasil; GUERRA, Ingrid Conceição Dantas; OLIVEIRA, Maria Gorette de Queiroz; BRITO, Erika Vanessa dos Santos. GASTRONOMIA SUSTENTÁVEL: Aproveitamento da polpa de coco verde como alternativa de geração de renda. *Applied Tourism*, [S. l.], v. 4, n. 2, p. 19, 2019. DOI: 10.14210/at.v4n2.p19-24.
- MACHADO, Leandro Junior. Caracterização da biomassa do coco verde (*Cocos nucifera* L.). 2015. Universidade Federal do Acre, [S. l.], 2015.
- MARTIN, M. J.; LARA-VILLOSLADA, F.; RUIZ, M. A.; MORALES, M. E. Effect of unmodified starch on viability of alginate-encapsulated *Lactobacillus fermentum* CECT5716. *LWT - Food Science and Technology*, [S. l.], v. 53, n. 2, p. 480–486, 2013. DOI: 10.1016/J.LWT.2013.03.019.
- MARTINS, C. R.; JESUS JUNIOR, L. A. D. Evolução da produção de coco no Brasil e o comércio internacional: panorama 2010. [s.l.: s.n.]. v. 164, 2011. Disponível em: [http://www.cpatc.embrapa.br/publicacoes\\_2011/doc\\_164.pdf](http://www.cpatc.embrapa.br/publicacoes_2011/doc_164.pdf).
- NUNES, L. A. et al. Waste green coconut shells: Diagnosis of the disposal and applications for use in other products. *Journal of Cleaner Production*, [S. l.], v. 255, p. 120169, 2020. DOI: 10.1016/j.jclepro.2020.120169. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.120169>.
- PASSOS, E. E. M.; CONCEIÇÃO, M. A. F.; MAIA, J. D. G. Germinação da Semente e Desenvolvimento da Plântula de Coqueiro Anão Verde no Nordeste de São Paulo. *In: Embrapa*. [s.l.] : Embrapa Informação Tecnológica, 1997. v. 10p. 155–162. DOI: 10.15290/bb.2018.10.13. Disponível em: <https://repozytorium.uwb.edu.pl/jspui/handle/11320/7876>.
- PRASANNA, P. H. P.; CHARALAMPOPOULOS, D. Encapsulation of *Bifidobacterium longum* in alginate-dairy matrices and survival in simulated gastrointestinal conditions, refrigeration, cow milk and goat milk. *Food Bioscience*, [S. l.], v. 21, n. December 2017, p. 72–79, 2018. DOI: 10.1016/j.fbio.2017.12.002. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2017.12.002>.
- PRIETO, W. H.; IGUTI, A. M.; NITZ, M. Drying evaluation of green coconut pulp for obtaining a snack-like product. *Procedia Food Science*, [S. l.], v. 1, p. 1618–1627, 2011. DOI: 10.1016/j.profoo.2011.09.239. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2211601X11002409>.
- PUUPPONEN-PIMIÄ, R.; AURA, A. M.; OKSMAN-CALDENTY, K. M.; MYLLÄRINEN, P.; SAARELA, M.; MATTILA-SANDHOLM, T.; POUTANEN, K. Development of functional

- ingredients for gut health. *Trends in Food Science and Technology*, [S. l.], v. 13, n. 1, p. 3–11, 2002. DOI: 10.1016/S0924-2244(02)00020-1.
- RANADHEERA, R. D. C. S.; BAINES, S. K.; ADAMS, M. C. Importance of food in probiotic efficacy. *Food Research International*, [S. l.], v. 43, n. 1, p. 1–7, 2009. DOI: 10.1016/j.foodres.2009.09.009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.009>.
- RAŠIĆ, J. L. MICROFLORA OF THE INTESTINE | Probiotics. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, [S. l.], p. 3911–3916, 2003. DOI: 10.1016/B0-12-227055-X/00776-8.
- RESENDE, J. M. et al. Colheita e Manuseio Pós-colheita. In: RESENDE, J. M. *Frutas do Brasil*. 1. ed. [s.l: s.n.]. p. 35–41, 2002.
- ROBERFROID, M. B. Inulin-type fructans: functional food ingredients. *Journal of Nutrition*, [S. l.], v. 137, n. p. 2493S-2502S, 2007.
- SAAD, S. M. I.; CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. F. *Probióticos e Prebióticos em Alimentos: Fundamentos e Aplicações Tecnológicas*. [s.l.] : Livraria Varela, 2011.
- SANDERS, Mary Ellen; GUARNER, Francisco; GUERRANT, Richard; HOLT, Peter R.; QUIGLEY, Eamonn M. M.; SARTOR, R. Balfour; SHERMAN, Philip M.; MAYER, Emeran A. An update on the use and investigation of probiotics in health and disease. *Gut*, [S. l.], v. 62, n. 5, p. 787–796, 2013. DOI: 10.1136/gutjnl-2012-302504.
- SANTANA, I. A. Avaliação química e funcional de polpa de coco verde e aplicação em gelado comestível. 2012. Instituto Maua de Tecnologia, [S. l.], 2012.
- SOARES, G. L. Aproveitamento da Polpa de Coco Verde Submetida ao Congelamento Rápido e lento. 2014. UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”, [S. l.], 2014.
- SOARES, G. L.; DAIUTO, É. R.; MENDONÇA, V. Z.; VIETES, R. L. Caracterização Físico-Química de Polpa de Coco Verde Submetida ao Congelamento Lento e Rápido. *Nativa*, [S. l.], v. 3, n. 3, p. 185–190, 2015. DOI: 10.14583/2318-7670.v03n03a06. Disponível em: <http://www.bibliotekevvirtual.org/index.php/2013-02-07-03-02-35/2013-02-07-03-03-11/1265-nativa/v03n03/13343-caracterizacao-fisico-quimica-de-polpa-de-coco-verde-submetida-ao-congelamento-lento-e-rapido.html>.
- SOUZA, Keiti. SOBREVIVÊNCIA DA BACTÉRIA PROBIÓTICA ENCAPSULADA EM ALGINATO DE CÁLCIO COM FARINHA DE BANANA VERDE, EM SMOOTHIE DE FRUTAS E DURANTE A SIMULAÇÃO GASTROINTESTINAL IN VITRO, 2015. São Caetano do Sul.
- TEIXEIRA, L. A. J. et al. Adubação com NPK em coqueiro anão-verde (*Cocos nucifera* L.): atributos químicos do solo e nutrição da planta. *Revista Brasileira de Fruticultura*, [S. l.], v. 27, n. 1, p. 115–119, 2005. DOI: 10.1590/s0100-29452005000100031.
- TEIXEIRA, N. S. et al. Aproveitamento Do Albúmen Sólido Do Coco. 2016. 1Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ 2Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ, [S. l.], 2016.
- TRIPATHI, M. K.; GIRI, S. K. Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods*, [S. l.], v. 9, n. 1, p. 225–241, 2014. DOI: 10.1016/j.jff.2014.04.030. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2014.04.030>.
- WANG, Yanbo. Probiotics: Present and future in food science and technology. *Food Research International*, [S. l.], v. 42, n. 1, p. 8–12, 2009. DOI: 10.1016/J.FOODRES.2008.09.001.