

POLÍMEROS CONSTITUÍDOS POR CARBOIDRATOS UTILIZADOS NO PROCESSO DE MICROENCAPSULAÇÃO DE BACTÉRIAS: UMA REVISÃO

ELINALVA MACIEL PAULO¹, SANDRA APARECIDA ASSIS² & VERA LUCIA CANCIO SOUZA SANTOS³

¹Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Feira de Santana. Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia UEFS (elinalvamaciell@yahoo.com.br)

²Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana

³Instituto de Química da Universidade Federal da Bahia

(Polímeros constituídos por carboidratos utilizados no processo de microencapsulação de bactérias: uma revisão) – A formação de microcápsulas contendo microrganismos com alto grau de desidratação constitui um grande potencial para a conservação dos microrganismos. Esta técnica de empacotamento de elemento ativo desidratado consiste em um dos processos da microencapsulação. Atualmente existem diferentes processos de microencapsulação com a utilização de vários tipos de polímeros de origem natural e sintética. O objetivo desta revisão foi fazer um estudo dos polímeros mais utilizados no processo de microencapsulação de microrganismos, visando à escolha do material de parede mais adequado para a microencapsulação de bactérias. Os sais de alginatos e a associação destes com outros polímeros orgânicos foram os mais utilizados nos trabalhos pesquisados.

Palavras-chave: Microencapsulação, polímeros, conservação, bactérias.

(Polymers containing carbohydrate to be used in the process of microencapsulation of bacteria: A review) – The formation of microcapsules containing microorganisms with a high degree of dehydration is a great potential for the conservation of microorganisms. This packaging technique of dehydrated active element consists in one of the processes of microencapsulation. Currently there are different processes of microencapsulation with the use of various types of both natural and synthetic polymers. The purpose of this review was to study the polymers used in the process of immobilization and microencapsulation of compounds aimed at the choice of wall material more suitable for the microencapsulation of bacteria. The salts of alginates and their association with other organic polymers have been the most used in the papers surveyed.

Key words: Microencapsulation, polymers, conservation, bacteria.

INTRODUÇÃO

As bactérias são microrganismos procarióticos cosmopolitas, que se reproduzem facilmente em seus *habitats* naturais e quando cultivados em condições artificiais apropriadas. Muitas dessas bactérias são utilizadas para fins industriais, seja na área farmacêutica, de alimentos, de cosméticos, na agricultura, ambiental e outras. Quando esses microrganismos estão em condições ambientais desfavoráveis, tais como a exaustão de nutrientes e exposição a altas temperaturas ou potenciais redox, podem ser destruídos. Entretanto, certas bactérias, quando isso acontece, entram em estágio de dormência ou “repouso”, desenvolvendo uma estrutura protetora chamada de endósporo (TORTORA *et al.*, 2002).

A formação de endósporos é um mecanismo natural de conservação e preservação das bactérias, mas pouquíssimas espécies possuem esta capacidade. A maioria das espécies bacterianas só permanece na forma vegetativa, que é metabolicamente ativa e facilmente inativada quando em condições desfavoráveis. Algumas técnicas de conservação de microrganismos não esporulantes foram desenvolvidas, visando não só manter um estoque para fins de pesquisa, mas também para fins comerciais.

LÓPEZ & FERNANDEZ (2005) afirmam que o princípio das técnicas de conservação se baseia na diminuição da atividade de água da célula microbiana. Essas técnicas são

basicamente o congelamento em substâncias crioprotetoras da cultura microbiana, a liofilização e a dessecação em solo, areia, sal, sílica gel e a microencapsulação.

Esta revisão teve como objetivo a realização de um estudo sobre os principais polímeros utilizados no processo de microencapsulação de compostos, visando à escolha do material de parede mais adequado para a microencapsulação de bactérias.

MICROENCAPSULAÇÃO

A formação de cápsula com alto grau de desidratação constitui um grande potencial para a conservação dos microrganismos. Esta técnica é chamada microencapsulação e é definida como a tecnologia do empacotamento de materiais sólidos, líquidos e gasosos, em miniaturas, lacrados em cápsulas que podem liberar seus componentes a velocidades controladas em condições específicas (SHAHIDI & HAN, 1993).

Desde que Chang, em 1988, se referiu à criação de estruturas artificiais protegendo as células vivas ou tecidos com uma membrana polimérica, realizaram-se muitos avanços na área de microencapsulação. Esta técnica permite que as cápsulas permaneçam estáveis durante longos períodos de tempo e apresentem superfície uniforme e lisa, de forma que se evite a ativação de componentes dos sistemas imune depois de uma administração “in vivo” (PONCE, 2003).

A cápsula é constituída pelo material de parede, ou encapsulante, e pelo núcleo formado pelo material ativo (encapsulado). Comercialmente, as microcápsulas têm tipicamente um diâmetro entre 5 a 500 μm e contêm de 10 a 90% de núcleo (TRINDADE & GROSSO, 2003). Os propósitos gerais da microencapsulação são: fazer um líquido comportar-se como sólido, separar materiais reativos, reduzir toxicidade do material ativo, controlar liberação do material, reduzir volatilidade ou inflamabilidade de líquidos, mascarar gosto de componentes amargos, aumentar o tempo de prateleira dos produtos e proteger contra luz, calor e outros (SHAHIDI & HAN, 1993).

Entre os materiais que podem ser encapsulados, para aplicação na indústria alimentícia, incluem-se ácidos, bases, óleos, vitaminas, sais, gases, aminoácidos, óleos essenciais, corantes, enzimas e microrganismos (ARSHADY, 1993).

Os microrganismos têm sido microencapsulados ou imobilizados para possibilitar a reutilização dos mesmos, na produção de metabólitos de interesse industrial (GROBILLOT *et al.*, 1993), para elevar a concentração de células em reatores, aumentando a produtividade (YOO *et al.*, 1996), para protegê-los contra presença de oxigênio (KIM *et al.*, 1990), contra as baixas temperaturas de congelamento (SHEU & MARSHALL, 1993), contra efeito bactericida do suco gástrico e outros meios ácidos (CUI *et al.*, 2000; TRINDADE *et al.*, 2002), para retirá-los do produto, interrompendo a acidificação (CHAMPGNE & CÔTE, 1987) e para aumentar a estabilidade e manter a viabilidade da cultura durante a estocagem do produto (HANSEN *et al.*, 2002).

Processos da microencapsulação

O passo inicial na encapsulação é a seleção do material de parede adequado. Substâncias de revestimento são basicamente materiais formadores de filme que podem ser selecionados a partir de uma variedade de polímeros naturais ou sintéticos, dependendo do material a ser revestido e das características desejadas nas microcápsulas (CUI *et al.*, 2000). O passo seguinte é a preparação das microesferas, que podem ser produzidas por métodos químicos, físico-químicos e mecânicos (TRINDADE *et al.*, 2002). Alguns deles estão descritos abaixo:

1. Coacervação

Consiste num método de separação de fases líquido/líquido, espontâneo, que ocorre quando são misturados polieletrólitos de cargas opostas em um meio aquoso. O soluto polimérico separado em forma de pequenas gotas constitui o coacervado. Usualmente se utiliza uma proteína, a gelatina, como encapsulante e gomas como a arábica que atuam como polímero de carga oposta para que a coacervação ocorra (TAKENAKA *et al.*, 1980). De acordo com MULKEEN (1998), a coacervação pode ser de dois tipos: simples, onde a separação da fase líquida ocorre pela adição de um eletrólito à solução coloidal, ou complexa, que resulta da neutralização mútua de dois colóides carregados com cargas opostas em solução aquosa.

2. Polimerização interfacial

É um processo onde se polimeriza um monômero na interface de duas substâncias imiscíveis, formando uma membrana que dará lugar à parede da microcápsula (THIES, 1996). A membrana de polímeros, tais como poliamida, náilon, poliéster, polifenilester, é produzida pela reação entre monômeros solúveis em água, tais como poliamina, 1,6-hexametilenediamina, piperidina, L-lisina, polifenol e monômeros de solvente orgânicos, tais como sebacoil cloro, 2,2-dicloro éter (PARK & CHANG, 2000).

3. Gelificação iônica

É um processo que utiliza principalmente o alginato como componente da membrana e a combinação com íons divalentes como o cálcio, para induzir a gelificação. O alginato é um heteropolissacarídeo linear formado pelos ácidos D-manurônico e L-gulurônico. Cátions divalentes como Ca^{2+} ligam-se preferencialmente ao polímero de ácido L-gulurônico. Estequiometricamente se requer 7,2% de cálcio (baseado no peso do alginato de sódio). Ao entrar em contato com os íons de cálcio, o alginato forma um gel instantaneamente. Os íons seguem difundindo-se no alginato, fazendo com que o gel vá endurecendo com o tempo (KING, 1995; ROCHA & GROSSO, 2001; MUKAI-CORREA *et al.*, 2005).

4. Incompatibilidade polimérica

Neste método, utiliza-se o processo de separação de fases em uma mistura de dois polímeros quimicamente diferentes e incompatíveis num mesmo solvente. Por isso, pode ser chamado de método por emulsão ou sistema de duas fases. A incompatibilidade polimérica é o mecanismo que induz a separação de fases. O material a encapsular vai interagir somente com um dos polímeros o qual se adsorve na superfície do material a encapsular formando uma película que o engloba (THIES, 1996). O polímero incompatível só entra no sistema para propiciar a formação de duas fases. Este método difere da coacervação complexa onde os dois polímeros incompatíveis fazem parte da parede da cápsula (MULQUEEN, 1998).

5. Polimerização *in situ*

Encapsulação *in situ* é um termo usado para descrever dois diferentes processos de encapsulação. Em ambos, o material encapsulado fica disperso na fase aquosa. O processo difere no tipo de parede da cápsula produzida e na fase em que ocorre a polimerização da parede (KIM & CHANG, 1990). Em um método, comumente chamado encapsulação uréia-formaldeído, a parede é formada da polimerização da poliamina e aldeído na fase aquosa. No outro, um monômero solúvel em óleo ou pré-polímero é convertido a polímero da parede pela reação da hidrólise do isocianeto que ocorre na água. Esse método é uma versão da polimerização interfacial, no qual o material de parede é predominantemente uma poliuréia (THIES, 1996).

6. Lipossomas

Lipossomas são estruturas compostas de uma bicamada de lipídeo que engloba um volume aquoso,

originando as microcápsulas (KING, 1995). São elaboradas com moléculas anfipáticas, que possuem sítios hidrofóbicos (ácidos graxos, fosfolipídios, etc.) e sítios hidrofílicos (colina, serina, inositol, etc.). Na fase aquosa se coloca o material a ser encapsulado quando esse é hidrofílico ou então se agrega o solvente orgânico, onde se dissolve o material se este for lipofílico (ISLAS, 2002).

7. Extrusão

Neste processo, os microrganismos são misturados em uma solução hidrocoloidal, sendo esta depois pulverizada na forma de gotículas em uma solução de endurecimento do hidrocolóide, normalmente o cloreto de cálcio. O polímero mais utilizado neste método é o alginato de sódio, que reage com cloreto de cálcio ocorrendo a formação de alginato de cálcio, substância insolúvel em água (TRINDADE & GROSSO, 2003).

8. Spray drying

Consiste em transformar um produto fluido em partículas secas. Este processo envolve a formação de uma suspensão ou emulsão, contendo material ativo e o agente encapsulante seguida da nebulização desta em uma câmara de secagem com circulação de ar quente (a água contida nas gotículas evapora em contato com o ar quente e os sólidos remanescentes do agente encapsulante envolvem o material ativo). O tamanho médio das partículas obtidas com este método é de 5 a 500 μm (SANTOS *et al.*, 2000; TRINDADE & GROSSO, 2003).

Principais polímeros utilizados na microencapsulação

Segundo BERTOLINI (1999), os principais materiais de parede utilizados incluem carboidratos (amido, maltodextrinas, xarope de milho sacarose e ciclodextrinas), celulose (carboximetilcelulose e derivados), gomas (arábica, agar, alginato, agarose, carragenana), lipídeos (ceras, parafinas e ácidos graxos), proteínas (glúten, caseína, gelatina, albumina, proteínas do soro do leite), fontes alternativas como a quitosana, materiais inorgânicos (sulfato de cálcio, silicatos, argila). O encapsulante ideal deve ter baixa viscosidade em concentrações elevadas; ser de fácil manipulação durante o processo; ter baixa higroscopicidade para facilitar a manipulação e evitar aglomeração; transformar líquidos em sólidos para uso em sistemas secos; deve ter habilidade para dispersar ou emulsificar e estabilizar o ingrediente ativo; não ser reativo com o material a ser encapsulado; deve ainda ter habilidade de selar e segurar o material ativo dentro da estrutura da cápsula (SHAHID & HAN, 1993). As principais características destes materiais de parede utilizados em processos de microencapsulação estão descritos a seguir.

1. Alginatos

Os alginatos extraídos de algas marrons são os polímeros mais utilizados na imobilização e microencapsulação de células, eles são extraídos de algas

marrons. Esses polímeros pertencem a uma família de polissacarídeos lineares não ramificados, e são constituídos por duas unidades monoméricas, o ácido D-manurônico e o ácido L-gulurônico (LASTA, 2005).

A composição e extensão das seqüências e o peso molecular determinam as propriedades físicas dos alginatos. Eles podem ser ligados a cátions multivalentes, tais como Ca^{2+} ou Ba^{2+} . As micropartículas de alginato de cálcio são geralmente preparadas por dois métodos: a) por gotejamento de uma solução de alginato de sódio em uma solução de um sal de cálcio; b) por gelificação do alginato em uma emulsão água/óleo (GOMBOTZ *et al.*, 1998). A reação entre alginato e cátions multivalentes forma um pequeno corpúsculo de gel com uma porosidade na faixa de 5 a 200 μm (KLINKENBERG, 2001).

Os alginatos disponíveis no mercado são comercializados, na sua maioria, em forma de sais hidrossolúveis, livres de celulose, branqueados e purificados, tais como ácido algínico, alginato de sódio, alginato de potássio, alginato de amônio, alginato de cálcio, alginato de propilenoglicol e, também, na forma de compostos combinados, como alginato de amônio-cálcio e alginato de sódio-cálcio (LASTA, 2008).

O uso do alginato é favorável porque esse reagente é mais barato, mais simples e de maior biocompatibilidade em comparação com outros polímeros (KLEIN *et al.*, 1983; TANAKA *et al.*, 1984; KRASACKOOPT *et al.*, 2003). No entanto, o gel de alginato é suscetível à desintegração na presença de excesso de agentes quelantes de íons de Ca^{2+} e ambiente químico severo, como pH muito baixo (KRASACKOOPT *et al.*, 2003). Policátions, tais como quitosana ou ácidos poli-amino (por exemplo, poli lisina), além de reduzirem a porosidade do gel, formam um complexo forte com alginatos que são estáveis na presença de agentes quelantes de Ca^{2+} (SMIDSDROD & SKJAK-BRAEK, 1990; GOMBOTZ *et al.*, 1998).

BREGNI *et al.* (2000) produziram microesferas de *Bacillus subtilis* na forma vegetativa e esporulada, utilizando alginato de sódio. Os resultados deste estudo mostraram que a encapsulação tanto de células microbianas quanto de seus esporos foram satisfatórios, por manterem alta viabilidade destes microrganismos por um período de 150 dias.

KLINKENBERG (2001) utilizou alginato de sódio 4% (m/v) para imobilizar *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* para a realização de estudos sobre a interferência do pH na liberação e desenvolvimentos dos *Lactococcus* encapsulados.

A microencapsulação do *Aerococcus viridans* com catalase em 3% (m/v) de alginato de sódio mostrou uma conversão de 98,5%, devido à alta produção da enzima Dihidroxiacetona Fosfatase (STREITENBERGER, 2002) mostrando que a microencapsulação não interferiu na atividade enzimática da bactéria. CHANDRAMOULIA *et al.*, (2003) realizaram experimentos sobre a viabilidade dos *Lactobacillus acidophilus* encapsulados em diferentes concentrações de alginato de cálcio (0,5, 1,8 e 2% m/v) em

presença do suco gástrico (pH 2,0), demonstrando a alta sobrevivência destes microrganismos microencapsulados, principalmente na concentração de 2% de alginato de cálcio. PARK *et al.* (2002) realizaram estudos com a bactéria *Bifidobacterium bifidum*, que é estimuladora do anticorpo IgA, o qual protege as mucosas do hospedeiro contra ação de microrganismos. O *B. bifidum* é um microrganismo anaeróbico e bastante sensível à acidez estomacal. Sua administração via oral no hospedeiro tornou-se possível após suas células terem sido microencapsuladas com alginato de cálcio 1,5% (m/v), obtendo-se uma alta sobrevivência durante a passagem do trato gastrointestinal e conseqüentemente uma maior produção de IgA nas mucosas do hospedeiro.

As bactérias lácticas são normalmente microencapsuladas com alginato de cálcio, porém este processo apresenta problemas de dissolução de cápsulas, devido ao fato destas bactérias tornarem o meio ácido.

YOO *et al.* (1996) utilizaram três fórmulas contendo alginato para microencapsular *Lactobacillus casei*, bactéria produtora de grande concentração de ácido láctico: na primeira formulação alginato de cálcio, na segunda alginato de bário e na terceira alginato na presença de quitosana. Obtiveram um melhor resultado com as cápsulas formadas com alginato de bário e com alginato na presença de quitosana, pelo fato destas cápsulas não terem sido destruídas no meio ácido.

No entanto, IYER & KAILASAPATHY (2005), comparando a sobrevivência de *Lactobacillus* spp. em condições *in vitro* de meio ácido (pH 2,0) e sais biliares e adicionado no iogurte, observaram uma melhor eficácia destas células microencapsuladas com o material de parede constituído por quitosana e amido de milho (1% m/v) que com as células microencapsuladas com o alginato.

2. Quitosana

Quitosana é um biopolímero de elevada massa molar usualmente preparado pela purificação e acetilação da quitina, que apresenta grande possibilidade de formar filmes, fibras e membranas de microcápsulas. Possui habilidade para formar complexos com íons de metais de transição devido à presença de grupos amino da unidade 2-amino-2-desoxi-D-glicose. A observação de que a quitosana possui uma afinidade por todos os íons metálicos do grupo III, cátions de metais de transição em concentrações na faixa de 20-40ppm; é bem conhecida. Quitosana é usualmente obtida na forma de flocos ou em pó; ambas as formas não possuem uma porosidade elevada e são solúveis em meio ácido. Esta solubilidade da quitosana em meio ácido limita seu uso. MAURO *et al.* (2000) realizaram trabalhos experimentais, com cápsulas de quitosana-álcool polivinílico, objetivando obter cápsulas porosas e insolúveis em meios ácidos.

A associação da quitosana com alginato de cálcio leva à formação de cápsulas mais estáveis (CALAMARIL, 2004), pois permite a formação de uma dupla parede na

microcápsula. Esse tipo de microcápsula não somente confere à proteína uma propriedade microambiental pela dupla proteção hidrofílica, mas também retarda a liberação do material encapsulado (MUZZARELLI *et al.*, 1976).

3. Pectina

Pectinas são polissacarídeos estruturais de um grupo complexo de polissacarídeos encontrados na parede celular primária e nas camadas intercelulares de plantas terrestres. Geralmente estão associadas à celulose, hemicelulose e ligninas e são mais abundantes em frutos e em tecidos jovens, como cascas de frutas cítricas. Estruturalmente, as moléculas de pectina são constituídas de uma cadeia principal linear de unidades repetidas de (1→4) – á-D-ácido galacturônico, sendo que parte destas unidades apresenta-se esterificada, como éster metílico (BRANDÃO & ANDRADE, 1999). Este polímero é bastante utilizado em alimentos para produção de geleias e doces de frutas, mas devido a sua propriedade gelificante, também pode ser utilizado no processo de formação de microcápsulas bacterianas, como pode ser visto no trabalho realizado por MORETTI *et al.* (2006). Estes autores concluíram que o conjugado pectina/caseína na constituição de microcápsulas é eficiente para prover proteção ao *L. acidophilus* em valores de pH semelhantes aos do estômago.

4. Agarose

É um polissacarídeo obtido de algas vermelhas Rhodophyceae, que podem ser considerados como um copolímero alternativo da unidade b-D-galactopyranosyl e 3,6-anidrogalaactopiranosil ligados fortemente pela ligação glicosídica 1-3 e 1-4, respectivamente. Tem massa molar de 200 kDa. Os géis de agarose formam poros grandes. A agarose tem sido usada extensivamente nas indústrias de alimentos e farmacêuticas, devido a sua capacidade de formar gel. É usada geralmente em concentrações de 1 a 3%. Forma gel termorreversível em concentrações baixas como 0,1% e em temperaturas consideravelmente abaixo da dissolução do gel ($T_{\text{gelacão}} \sim 40^{\circ}\text{C}$ e $T_{\text{dissolução}} \sim 90^{\circ}\text{C}$) dependendo do substrato (GARCIA & VIDAL, 2000).

TRUEBA (2004) estudou a sobrevivência da bactéria patogênica *Leptospira interrogans* sorovar Canicola em dois meios aquosos carentes de nutrientes: água destilada (pH 7,2) e meio semi-sólido composto de água destilada adicionada de 0,5% de agarose purificado. As *Leptospiras* incubadas em água destilada conservaram a mobilidade durante 110 dias. Quando foram incubadas em água destilada contendo agarose, sobreviveram 347 dias. Com este resultado, pode-se inferir sobre uma possível utilização da agarose no processo da microencapsulação. ZVITOV *et al.* (2004) realizaram experimentos com *Escherichia coli* e *Serratia marcescens* objetivando observar a redução populacional destas bactérias microencapsuladas por alginato e agarose frente à aplicação de várias voltagens de corrente elétrica em 10 segundos. A redução do número de células foi menor nas bactérias encapsuladas pela agarose.

5. Carragenana

A carragenana e as agaranas constituem um grupo de polissacarídeos formados por galactanas, mas são altamente sulfatadas e fortemente aniônicas, ou seja, têm excesso de carga negativa. A carragenana é preparada pela extração alcalina (e modificação) de algas vermelhas (Rhodophyceae) na maioria do gênero *Chondrus*, *Eucheuna*, *Gigartina* e *Irideaea*. Diferentes algas marinhas produzem diferentes carragenanas. Na sua estrutura molecular, caracteriza-se como um polímero linear contendo cerca de 25.000 derivados da galactose. Todas as carragenanas são altamente flexíveis devido a sua conformação de dupla hélice. Com o aquecimento, formam gel flexível e resistente quando misturadas com íons de K^+ e Ca^{2+} (LAPASIN & PRICL, 1999 *apud* TONELI *et al.*, 2005). Este polímero é utilizado na imobilização de células bacterianas. TSEN *et al.* (2007) utilizaram o k-carragenana em células de *Lactobacillus reuteri* para testar seu efeito protetor em condições de armazenamento deste microrganismo em baixa temperatura. BUYUHGUNGOR (1992) utilizou este polímero para imobilizar células de *L. bulgaricus* e testar o seu efeito protetor em condições de refrigeração, mostrando uma excelente alternativa para estocar células bacterianas em baixas temperaturas.

6. Goma arábica

A goma arábica é preparada a partir de um exsudato de várias espécies de árvores de acácia. Quimicamente é um sal neutro ou levemente ácido de um polissacarídeo complexo que contém íons cálcio, magnésio e potássio em suas moléculas, sendo formado por seis carboidratos: galactose, ramnose, arabinopiranoose, arabinofuranose, ácido glucurônico e ácido metilglucurônico (PROKASH & MANGINO, 1990).

Tradicionalmente, a goma arábica tem sido utilizada em microencapsulação porque apresenta baixa viscosidade em solução, tem boa retenção de compostos voláteis e favorece a estabilidade das emulsões (ABURTO *et al.*, 1998). Os estudos de estabilidade indicaram uma boa proteção às microcápsulas constituídas pela goma arábica frente ao efeito da luz e da temperatura, mas não ao efeito do oxigênio o que deixa os compostos microencapsulados sujeitos à oxidação.

LIAN *et al.* (2003) encapsularam *Bifidobacterium longum* e *B. infantis* em amido, goma arábica, gelatina e leite desnatado e ambos demonstraram uma maior sobrevivência ao suco gástrico pH 2,0 e à bile 2%, quando comparados com às células não encapsuladas. Isso implica em um grande potencial em se utilizar estes materiais no preparo de produtos probióticos contendo bifidobactérias que resistem à passagem gastrointestinal e desta forma possam colonizar no intestino.

7. Amido

O amido é um polissacarídeo formado por moléculas de glicose ligadas entre si através de numerosas

ligações $\alpha(1,4)$ e ligações $\alpha(1,6)$, sendo que estas últimas formam os “pontos de ramificação” da cadeia. Sua molécula é muito linear e forma hélice em solução aquosa (LEHNINGER *et al.*, 2000). O grão de amido é uma mistura de dois polissacarídeos: amilose e amilopectina. A amilose é uma macromolécula constituída de 250 a 300 resíduos de D-glicopiranoose, ligadas por pontes glicosídicas $\alpha-1,4$, que conferem a molécula uma estrutura helicoidal. A amilopectina, macromolécula menos hidrossolúvel que a amilose, sendo constituída por aproximadamente 1.400 resíduos de α -glicose ligadas por pontes glicosídicas $\alpha-1,4$; ocorrendo também por ligações $\alpha-1,6$. A amilopectina constitui, aproximadamente, 80% dos polissacarídeos existentes no grão de amido (CEREDA, 2001).

O amido é uma substância de alta propriedade higroscópica, por isso é bastante utilizado em processos industriais baseados na desidratação como na produção de sucos de frutas desidratados e na microencapsulação de diferentes produtos. DAIAUTO & CEREDA (2003) citam como os mais utilizados: amidos ou féculas, dextrinas, maltodextrinas, ciclodextrinas e xaropes de milho. Porém, SANTOS *et al.* (2000) afirmam que as cápsulas de amido não oferecem adequada proteção a compostos sensíveis a oxidação por luz ou temperatura. O estudo realizado por O’RIORDAN *et al.* (2001) indicou que o uso do amido como material de parede, não ofereceu proteção nas cepas microencapsuladas de *Bifidobacterium* quando armazenados por 20 dias em dois produtos de natureza ácida. O amido de milho modificado por inclusão de agrupamento lipofílico tem mostrado um melhor resultado na microencapsulação. O amido utilizado também pode ser de outras fontes, como mandioca, batata e trigo (CARDELLO & CELESTINO, 1996).

As ciclodextrinas (CDs) são substâncias obtidas a partir do amido e são muito adequadas para microencapsulação por inclusão molecular. São formadas a partir da degradação controlada e posterior ciclização do amido por enzimas específicas, como a ciclodextrina glicosil transferase (CARDELLO & CELESTINO, 1996). São constituídas por um número variável de unidades de glicose unidas entre si por ligações $\alpha-1,4$. As mais comuns são α -CD, β -CD e γ -CD com 6, 7 e 8 unidades de glicose, respectivamente (BEJARANO & DIAS, 2004). Tem a forma de um cone truncado com uma cavidade hidrofóbica no centro. Externamente as CDs são hidrofílicas, sendo, portanto, solúveis em água. Devido à hidrofobicidade da cavidade interna das CDs, moléculas hidrofóbicas podem penetrar e se ligar no seu interior, desde que as dimensões das moléculas sejam compatíveis com o tamanho da cavidade (MARTIOLE & AMAYA, 2003).

CONCLUSÃO

Numerosos processos de microencapsulação já foram desenvolvidos e patenteados, porém existe a necessidade de mais estudos com relação ao material de

parede ideal para a microencapsulação de microrganismos. Apesar de alguns estudos mostrarem os sais de alginato e a sua associação com outros polímeros orgânicos, como ideal para o material de parede de microcápsulas bacteriana,

estes compostos não formam uma barreira eficiente em algumas condições, sugerindo que ainda são necessários os desenvolvimentos de novos polímeros para uma aplicação comercial.

REFERÊNCIAS

- ABURTO CL, DQ TAVARES & ET MARTUCCI. 1998. Microencapsulação de óleo essencial de laranja. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** 18(1): 45-48.
- ARSHADY R. 1993. Microencapsules for food. **Journal of Microencapsulation** 10(4): 413-435.
- BEJARANO RO & AB DIAZ. 2004. Sistemas de liberação controlada de fármacos. **Clon** 2(1): 73-81.
- BERTOLINI AC. 1999. **Estabilidade de óleo essencial de laranja, linalol e citral microencapsulados em goma arábica por atomização**. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas.
- BREGNI C *et al.* 2000. Alginate microspheres of *Bacillus subtilis*. **Ars Pharmaceutica** 41(3): 245-248.
- BRANDÃO EM & CT ANDRADE. 1999. Influência de fatores estruturais no Processo de gelificação de pectinas de alto grau de metoxilação. **Polímeros: Ciência e Tecnologia** 9(3): 38-44.
- BÜYÜKGÜNGÖR H. 1992. Stability of *Lactobacillus bulgaricus* immobilized in kappa-carrageenan gels. **J. Chem. Technol Biotechnol.** 53(2): 173-5.
- CALAMARIL S. 2004. Efecto del quitosán de alto peso molecular y del alginato de sodio sobre la proteínasa ácida secretoria de *Candida albicans*. **Rev. Iberoam. Microl.** 21: 206-208.
- CARDELLO HMAB & EM CELESTINO EM. 1996. Encapsulação de aromas e sabores: utilização de amidos com agentes encapsulantes. **Bol. SBCTA** 30(2): 166-171.
- CARRAGEENAN. 2005. Disponível em: <<http://www.lsbu.ac.uk/water/hyeal.html>>. Acesso em 10 julho de 2005.
- CEREDA MP. 2001. Culturas de tuberosas amiláceas Latino Americana, p. 141-185. *In: Propriedades gerais do amido, vol. 1*. São Paulo: Fundação Cargill.
- CHAMPAGNE CP & CB CÔTE. 1987. Cream fermentation by immobilized lactic acid bacteria. **Biotechnology Letters** 9(5): 329-332.
- CHANDRAMAULIA V *et al.* 2003. An improved method of microencapsulation and its evaluation to protect *Lactobacillus* spp. in simulated gastric conditions. **Journal of Microbiological Methods** 56: 27-35.
- CHANG YI, J SCIRE & B JACOBS. 1998. Effect of particle size and microstructure properties on encapsulated orange oil. **Am. Chem. Soc.** 10: 87-102.
- CUI JH *et al.* 2000. Survival and stability of bifidobacteria loaded in alginate poly-L-lysine micro particles. **International Journal of Pharmaceuticals** 210: 51-59.
- DAIAUTO ER & MP CEREDA. 2003. Amido como suporte na desidratação por atomização e em microencapsulamento, p. 499-474. *In: Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas Latino Americana, vol. 3*. São Paulo: Fundação Cargill.
- GARCIA RB & RL VIDAL. 2000. Preparation and structural characterization of o-acetil agarose with low degree of substitution. **Polímeros: Ciência e Tecnologia** 10(3): 155-161.
- GOMBOTZ WR & SF WU. 1998. Protein release from alginate. **Advanced Drug Delivery Reviews** 31: 67-285.
- GROBILLOT AF *et al.* 1993. Membrane formation by interfacial crosslinking of chitosan for microencapsulation of *Lactococcus lactis*. **Food Biotechnology and Bioprocess** 42: 1157-63.
- HANSEN LT *et al.* 2002. Survival of Ca-alginate microencapsulated *Bifidobacterium* spp. in milk and simulated gastrointestinal conditions. **Food Microbiology** 19: 35-45.
- ISLAS RP. 2002. Alimentos microencapsulados: particularidades de los procesos para la microencapsulación de alimentos para larvas de espécies Acuícolas. Avances em Nutrición Acuícola VI. *In: XVI SIMPOSIUM INTERNACIONAL DE NUTRICIÓN ACUÍCOLA, Memórias...* Cancún, Quintana Roo, México.
- IYER C & K KAILASAPATHY. 2005. Effect of co-encapsulation of probiotics with prebiotics on increasing the viability of encapsulated bacteria under in vitro acidic and bile salt conditions and in yogurt. **Journal of Food Science** 70(1): 18-23.
- KIM DJ & HN CHANG. 1990. Enhanced shikonin production from *Lithodermum erythrorhizon* by in situ extraction and calcium alginate immobilization. **Biotechnol Bioeng** 36: 460-466.
- KING A, P TRUBIANO & P PERRY. 1976. Modified starch encapsulating agents offer superior emulsification, film forming and low surface oil. **Food Product Development** 54-57.
- KING A. 1995. Encapsulation of food ingredients, p. 26-39. *In: S RISCH & G REYNECCIUS (eds.). Encapsulation and controlled release of food ingredients*. ACS Symposium Series 590, American Chemical Society, Washington D.C.
- KLEIN J, J STOCK & KD VORLOP. 1983. Pore size and properties of spherical Ca-alginate biocatalysts. **European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology** 18(1): 86-91.
- KLINKENBERG G, KQ LYSTAD, DW LEVINE & N DYRSET. 2001. pH-controlled cell release and biomass distribution of alginate-immobilized *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*. **Journal of Applied Microbiology** 91: 705-714.
- KRASAEOOPT W, B BHANDARI & DEETH. 2003. Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yogurt: a review. **Internacional Dairy Journal** 13(1): 3-13.
- LASTA MSD. 2005. **Alginato**. Disponível em: <<http://www.monográficos.com/trabajos12/alginate/alginate>>. Acesso em 16 jun. 2005.
- LEHNINGER AL, DL NELSON & MM COX. 2000. **Princípios de bioquímica**. 2ª ed. São Paulo: Sarvier.
- LIAN WC, HC HSIAO & CC CHOU. 2003. Viability of microencapsulated bifidobacteria in simulated gastric juice and bile solution. **International Journal of Food Microbiology** 86: 293-301.
- LOPÉZ MDG & FV FERNANDEZ. 2005. **Colección española de cultivos tipo (CECT)**. Universitat de Valencia. (València). Disponível em <<http://www.uuv.es/cect>>. Acesso em 17 jun. 2005.
- MARTIOLE G & RDB AMAYA. 2003. Microencapsulação do licopeno com ciclodextrinas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** 23(supl): 102-105.
- MAURO AVCM, CM LARANJEIRA, SF VALFREDO & T FÁVERE. 2000. Processo alternativo para remoção de cobre e níquel (II) de soluções aquosas utilizando cápsulas de quitosana-álcool polivinílico. **Química Nova** 23(1): 13.
- MORETTI TS *et al.* 2006. Microencapsulação de *Lactobacillus acidophilus* e avaliação da resistência deste ao processo empregado, ao armazenamento e pH ácido.

- In: REUNIÃO ANUAL DA SBPC, 58, **Anais...** Florianópolis, SC.
- MUKAI-CORREA R *et al.* 2005. Caracterização de microcápsulas contendo caseína e gordura vegetal hidrogenada obtidas por gelificação iônica. **Brazilian Journal of Food Technology** 8(1): 73-80.
- MULQUEEN PJ. 1998. Recent developments on safer formulations of agrochemicals. In: DA KNOWLES (ed.). **Chemistry and technology of agrochemical Formulations**. Dordrecht: Kluwer.
- MUZZARELLI RAA, G BARONTINI & ROCCHETTIR. 1976. Immobilization of enzymes on chitosan. **Biotechnol. Bioeng.** 18: 1445-1454.
- O'RIORDAN K *et al.* 2001. Evaluation of microencapsulation of a *Bifidobacterium* strain with starch as an approach to prolonging viability during storage. **Journal of Applied Microbiology** 91: 1059 -1066.
- PARK JK *et al.* 2002. Encapsulated *Bifidobacterium bifidum* potentiates intestinal IgA production. **Cellular Immunology** 219: 22-27.
- PARK JK & HN CHANG. 2000. Microencapsulation of microbial cells. **Biotechnology Advances** 18: 303-319.
- PONCE S. 2003. Efecto del polícatión en la viabilidad celular y la estabilidad mecânica de microcápsulas de alginato. **Tecnología farmacêutica** 99-101.
- PRAKASH AJM & ME MANGINO. 1990. The effects of added proteins on the functionality of gum arabic in soft drink emulsion systems. **Food Hydrocolloids** 4(3): 177.
- ROCHA WS & CRF GROSSO. 2006. Permeação de solutos de diferentes massas moleculares em matrizes compostas de alginato de cálcio e acetofitalato de celulose. **Sitientibus** 35: 125-148.
- SANTOS BA, VP FERREIRA & CRF GROSSO. 2000. Microcápsulas, uma alternativa viável. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento** 16: 26-30.
- SHAHIDI F & X HAN. 1993. Encapsulation of food ingredients. Critical Review. **Food Science and Nutrition** 33(6): 501-547.
- SHEU TY & RT MARSHALL. 1993. Micro entrapment of lactobacilli in calcium alginate gels. **Journal of Dairy Science** 54(3): 557-561.
- SMIDSRD O & G SKJAK-BRAEK. 1990. Alginate as immobilization matrix for cells. **Trends in Biotechnology** 8(3): 71-78.
- STREITENBERGER SA. 2002. Microencapsulation of *Aerococcus viridans* with catalase and its application for the synthesis of dihydroxyacetone phosphate. **Appl. Microbiol Biotechnol** 58: 73-76.
- TAKENAKA H, Y KAWASHIMA & SY LIN. 1980. Micrometric properties of Sulfamethoxazole microcapsules prepared by gelatin-acacia coacervation. **J. Pharmaceutical Science** 69(5): 513-516.
- TANAKA H, M MASATOSE & IA VELEKY. 1984. Diffusion characteristic of substrates in Ca-alginate beads. **Biotechnology and Bioengineering** 26(1): 53-58.
- THIES C. 1996. A survey of Microencapsulation processes, p. 1-20. In: S BENITA (ed.). **Microencapsulation**. Nova York: Marcel Dekker, Inc.
- TONELI JTCL, FEX MURR & KJ PARK. 2005. Estudo da reologia de polissacarídeos utilizados na indústria de alimentos. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais** 7(2): 181-204.
- TORTORA GJ, BR FUNKE & CL CASE. 2002. **Microbiologia**. 7ª ed. Porto Alegre: Artes Médicas Sul.
- TRINDADE CSF & CRF GROSSO. 2003. Encapsulação de culturas probióticas. **Bol. SBCTA** 37(supl.): 88-93.
- TRINDADE CSF & CRF GROSSO. 2002. Microencapsulation of *Lactobacillus* (La-05) and *B. lactis* (Bb-12) and evaluation of their survival at the pH values of the stomach and in bili. **Journal of Microencapsulation** 19(4): 485-494.
- TRUEBA G. 2004. Cell aggregation: a mechanism of pathogenic *Leptospira* to survive in fresh water. **Int Microbiol** 7: 35-40.
- ZVITOV R, C ZOHAR-PEREZ & A NUSSINOVITCH. 2004. Short-duration low-direct-current electrical field treatment is a practical tool for considerably reducing counts of Gram-negative bacteria entrapped in gel beads. **Appl. Environ. Microbiol.** 70(6): 3781-3784.
- YOO IK *et al.* 1996. Encapsulation of *Lactobacillus casei* cells in liquid-core alginate capsules for Lactic acid production. **Enzyme and Microbial Technology** 19: 428-433.