



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTLA GUTIÉRREZ

Nombre del proyecto:

“Modelación del secado por aspersión de *Lactobacillus plantarum*”

Carrera:

Ingeniería Bioquímica

Presenta:

Montserrat Cruz Rodríguez

Asesor:

Dr. Miguel Abud Archila

Tuxtla Gutiérrez Chiapas, Enero de 2015



Índice

Capítulo 1	1
1.1 Introducción.....	2
1.2 Justificación.....	3
1.3 Marco teórico.....	4
1.3.1 Bacterias ácido lácticas	4
1.3.1.1 Probióticos	5
1.3.1.2 Lactobacillus plantarum.....	5
1.3.2 Microencapsulación	6
1.3.2.1 Agentes encapsulantes	8
1.3.2.2 Maltodextrina.....	9
1.3.2.3 Goma arábiga.....	10
1.3.3 Técnicas de micro encapsulación	10
1.3.3.1 Secado por aspersion	10
1.3.3.2 Aplicación del secado por aspersion en BAL	12
1.3.4 Modelación matemática de procesos.....	13
Capítulo 2	15
2.1 Objetivo general	16
2.1 Objetivos específicos	16
Capítulo 3	17
3.1 Problemas a resolver	18
Capítulo 4	19
4 Procedimiento y descripción de las actividades realizadas.....	20
4.1 Secado por aspersion.....	20
4.1.1 Obtención del pellet	20
4.1.2 Preparación de los agentes encapsulantes	20
4.1.3 Secado por aspersion	20
4.2 Caracterización de los polvos.....	20
4.2.1 Determinación de la actividad acuosa de los polvos.....	20
4.2.2 Colorimetría	20
4.2.3 Rendimiento del secado por aspersion.....	21



4.2.4 Supervivencia de <i>L. plantarum</i>	21
4.3 Diseño experimental.....	21
4.4 Análisis estadístico	22
Capítulo 5	23
5.1 Resultados	24
5.1.1 Determinación de actividad acuosa	24
5.1.2 Modelación de actividad acuosa.....	25
5.1.3 Análisis de color.	26
5.1.4 Modelación del índice de blancura.....	28
5.1.5 Determinación del rendimiento del proceso de secado por aspersión	29
5.1.6 Modelación del rendimiento del proceso de secado por aspersión	33
5.1.7 Determinación de la supervivencia de <i>L. plantarum</i>	34
5.1.7 Modelación de la supervivencia de BAL-03.....	35
Capítulo 6	37
6.1 Conclusiones	38
6.2 Recomendaciones	39
Capítulo 7	40
7.1 Competencias desarrolladas	41
Capítulo 8	42
8.1 Referencias bibliográficas	43



Capítulo 1



1.1 Introducción

Las bacterias ácido lácticos (BAL) son un grupo de bacterias Gram positivas que, especialmente las del género *Lactobacillus*, son más ampliamente utilizadas en aplicaciones alimentarias (Bourdichon, Casaregola, Farrokh, & Frisvad, 2012). Además, las BAL pueden mejorar la seguridad alimentaria y la salud de los consumidores mediante la prevención o la reducción de la incidencia de patógenos (Gaggia & Gioia, 2011).

El éxito en la utilización de las BAL para tales fines a menudo requiere una alta densidad celular y la retención de la actividad por una cantidad razonable de tiempo antes de la incorporación en la formulación de alimentos, a fin de garantizar el efecto deseado. Una variedad de diferentes métodos han sido reportados en la literatura, incluyendo secado por aspersión, secado al vacío, secado al aire y de secado en lecho fluidizado (Meng, Stanton, & Fitzgerald, 2008) y estos han dado lugar a diferentes grados de supervivencia celular.

Entre las técnicas para la producción de células microbianas secas, el secado por aspersión ha atraído cada vez interés de la investigación, ya que es mucho más rentable que la liofilización y volúmenes más grandes se pueden procesar (Knorr, 1998). El secado por aspersión o secado en “spray” es la transformación de una disolución, una emulsión, una suspensión o una dispersión líquida en un producto totalmente seco y estable. A pesar de las altas temperaturas utilizadas para el secado, los tiempos de proceso son muy cortos comparados con otros procesos de secado, lo que hace a este técnica más favorable en el caso de trabajar con materiales sensibles al calor. (Alvarez, 2009).

Los modelos matemáticos son un conjunto de técnicas matemáticas y estadísticas utilizadas para modelar y analizar problemas en los que una variable de interés es influenciada por otras. El propósito inicial de estas técnicas es diseñar un experimento que proporcione valores razonables de la variable respuesta y, a continuación, determinar el modelo matemático que mejor se ajusta a los datos obtenidos. El objetivo final es establecer los valores de los factores que optimizan el valor de la variable respuesta. Esto se logra al determinar las condiciones óptimas de operación del sistema (Kuehl, 2001).

El objetivo de este proyecto es el de modelar el rendimiento del proceso de secado por aspersión y la viabilidad del *Lactobacillus plantarum* mediante un modelo lineal de regresión múltiple, y así con esto, optimizar el proceso mediante la determinación de las condiciones óptimas de operación.



1.2 Justificación

El secado por aspersion es considerado un buen método de conservación para cultivos probióticos (Riveros, Ferrer, & Bórquez, 2009), además de ser un procedimiento económico para la producción de cantidades a escala industrial de microorganismos viables. Su aplicación para preservar probióticos ha recibido recientemente un interés considerable (Peighambardoust & Golshan, 2011).

Para poder llegar a un escalamiento, es necesario reunir toda la información necesaria para conocer muy bien el proceso, así como tener identificado las variables que interactúan en él mediante un modelo matemático. Un modelo puede considerarse como una representación de las partes esenciales de un sistema en una forma conveniente y puede tener diferentes formas dependiendo del proceso. El método más utilizado para representar el comportamiento de un sistema es a través de un modelo matemático (Ruelas, 2000)

Los modelos matemáticos son necesarios para el control de procesos, predicción de comportamiento, detección de fallas, estimación de variables no medibles, así como para entender mejor el comportamiento del proceso (Caicedo, 2000).

La finalidad de este proyecto es el de establecer los modelos matemáticos de la caracterización de las microcápsulas obtenidas del secado por aspersion de *Lactobacillus plantarum*. La ventaja que presenta la modelación de procesos es debido a que a partir de datos reales (los que se utilizarán para obtener un modelo matemático si no existe y/o validar los resultados al resolver el modelo o la simulación en sí) se puede obtener información que permitirá el análisis, la síntesis y la optimización; además no se requiere una gran cantidad de experimentos (lo que incrementan los costos en la adquisición de reactivos e insumos) ya que si el modelo utilizado es el adecuado, la reproducibilidad de resultados es excelente (García González, 2008).

1.3 Marco teórico

1.3.1 Bacterias ácido lácticas

Las bacterias ácido lácticos (BAL) son caracterizadas como cocos *Gram positivos* o bacilos no aeróbicos pero aerotolerantes, capaces de fermentar carbohidratos para obtención de energía y la producción de ácido láctico. Su metabolismo vía glucosa puede ser homofermentativo o heterofermentativo. En el primer caso dos moléculas de lactato se generan (como en *Streptococcus* y *Lactococcus*), y en el segundo, se producen lactato, etanol y dióxido de carbono, como en *Leuconostoc* y algunos lactobacilos.

Las bacterias ácido lácticas también son capaces de producir pequeñas sustancias orgánicas que contribuyen con aroma y dar atributos organolépticos específicos para la productos (Caplice & Fitzgerald, 1999)

Estos microorganismos se encuentran en la leche, la carne y productos fermentados, y entre sus beneficios está el de inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos, y mejorar la vida útil de los alimentos. También se han utilizado como productores de sabor y textura.

Las bacterias lácticas incluyen varios géneros principales: *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactosphaera*, *Leuconostoc*, *Melissococcus*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* y *Weissella*. Otros géneros son: *Aerococcus*, *Microbacterium*, *Propionibacterium* y *Bifidobacterium* (Carr & Hill, 2002).

Lactobacillus acidophilus, *L. plantarum*, *L. casei*, *L. casei rhamnosus*, *L. delbrueckii bulgaricus*, *L. fermentum*, *L. reuteri*, *Lactococcus lactis lactis*, *Lactococcus lactis cremoris*, *Bifidobacterium bifidum*, *B. infantis*, *B. adolescentis*, *B. longum*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, son algunas de las especies más comunes (Garrity) y algunas cepas son reconocidas como probióticos (Fuller, 1989).

La fermentación de azúcar, seguido por una reducción en el pH debido a la producción de ácido láctico y de otros ácidos orgánicos, es un factor importante para la inhibición de crecimiento de microorganismos no deseados.

El bajo pH hace que a los ácidos orgánicos liposolubles, lo que les permite romper la membrana celular y alcanzar el citoplasma de los patógenos (Haller & Colbus, 2001).



La competencia por los nutrientes esenciales, acumulación de D-aminoácidos y la disminución del potencial oxi-reductor también contribuyen a su efecto inhibitorio.

1.3.1.1 Probióticos

Los probióticos se definen como "microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio a la salud del huésped" (FAO/OMS, 2002). A través de los años, muchas especies de microorganismos han sido utilizadas como probióticos y no sólo consisten en bacterias ácido lácticas (*Lactobacilos*, *Streptococos*, *Enterococos*, *Lactococos*, *Bifidobacterias*), sino también se han incluido los *Bacillus* y algunos hongos, tales como *Saccharomyces* y *Aspergillus*.

Algunas especies de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* están establecidas en el mercado como cepas probióticas, se incluyen *L. acidophilus*, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*, *L. casei*, *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. reuteri*, *B. infantis*, *B. breve*, *B. animalis*, *B. adolescentis* y *B. longum*, principalmente. Estas bacterias son sometidas a un proceso de selección, evaluando su capacidad de resistir las condiciones gastrointestinales y adherencia a la mucosa de las células epiteliales intestinales (Jacobsen, 1999). Dentro del proceso de selección también se evalúa la existencia de actividades funcionales que permiten a las cepas modular funciones fisiológicas en el huésped y ejercer efectos saludables.

El mercado de los probióticos mundialmente se encuentra en expansión y presenta una de las mayores tasas de crecimiento dentro del mercado global de los alimentos funcionales (Saxelin, 2008). El número de nuevos productos con probióticos aumenta cada año y el principal sector asociado al uso de probióticos sigue siendo el de los productos lácteos. Sin embargo, los progresos de la microbiología y la tecnología de alimentos, y en particular los procesos de microencapsulación están permitiendo la incorporación de estos microorganismos a productos tan variados como jugos, helados, cereales, mayonesas, chocolates y galletas.

1.3.1.2 *Lactobacillus plantarum*

Lactobacillus plantarum, como todos los probióticos, es una bacteria benéfica que se puede utilizar para mejorar la salud. *Lactobacillus* es el género más grande del grupo de bacterias del ácido láctico. *Lactobacillus plantarum* es uno de más de 50 especies de *Lactobacillus* que fue aislado por primera vez de la saliva humana.



Es uno de los probióticos más versátiles, *Lactobacillus plantarum* se encuentra en el material vegetal y el tracto gastrointestinal de los animales, incluyendo los seres humanos. Se utiliza en la fermentación de alimentos como el chucrut, kimchi, encurtidos y pan de masa fermentada. Se ha utilizado para este propósito durante cientos de años, y es una opción más saludable en la conservación de alimentos. Junto con la promoción de la salud digestiva normal, *Lactobacillus plantarum* ha demostrado ser un tratamiento eficaz para el síndrome del intestino irritable (IBS), enfermedad de Crohn, y colitis. Tiene la capacidad de destruir los agentes patógenos y para preservar nutrientes críticos, vitaminas y antioxidantes. También ha demostrado la rara habilidad de producir *L-lisina*, un aminoácido beneficioso (American Journal of Clinical Nutrition, 2001).

Cuando una colonia sana de *Lactobacillus plantarum* vive en los intestinos, evita que las bacterias dañinas se adhieran a la mucosa y compite por los nutrientes a las bacterias malas que necesitan para sobrevivir. Sin comida y sin espacio para vivir, las bacterias dañinas pasan inofensivamente a través del cuerpo.

En un factor relacionado, *Lactobacillus plantarum* ha demostrado ser altamente resistente a la mayoría de los antibióticos. Aunque los antibióticos son a menudo necesarios, causan el crecimiento excesivo de levadura en adultos y niños. Esto a menudo resulta en un sistema digestivo alterado. Cuando una colonia sana de *Lactobacillus plantarum* vive en los intestinos, evita la sobreproducción de la levadura y elimina este problema común que es a menudo el resultado del uso de antibióticos (Taylor & Mitchell, 2007).

1.3.2 Microencapsulación

La microencapsulación se define como la tecnología del empaquetado en miniatura de materiales sólidos, líquidos o gaseosos en cápsulas cerradas herméticamente, capaces de liberar su contenido a velocidades controladas bajo condiciones específicas (Todd, 1970),

Los paquetes miniaturizados, denominados microcápsulas, pueden variar de tamaño desde submicrómetros (nanocápsulas) hasta varios milímetros y tener multitud de formas diferentes, dependiendo de los materiales y métodos empleados para prepararlas. Hablando en términos generales, la microcápsula tiene la capacidad de modificar y mejorar la forma aparente y propiedades de una sustancia. Más específicamente, la microcápsula es capaz de conservar una sustancia en estado finamente dividido,



Capítulo 1

liberándolo cuando la ocasión demande. Balssa y Fanger (1971) consideran a las microcápsulas un medio para: proteger componentes alimentarios sensibles, asegurar que no se producen pérdidas nutritivas, usar ingredientes que de otra forma serían sensibles o lábiles, incorporar en la formulación mecanismos novedosos de liberación dependientes del tiempo, enmascarar o conservar aromas y de transformar líquidos en ingredientes sólidos fácilmente manipulables.

Diversas propiedades de las microcápsulas que pueden ser cambiadas para adaptarlas a aplicaciones de ingredientes específicos incluyen composición, mecanismo de liberación, tamaño de partícula, forma física final y costo. Antes de considerar las propiedades deseables de los productos encapsulados, deberá aclararse la finalidad de la encapsulación. Al diseñar procesos de encapsulación, deben tenerse en consideración los siguientes aspectos:

1. Funcionalidad que deben aportar los ingredientes encapsulados en el producto final.
2. Tipo de material de cobertura que deberá elegirse o seleccionarse.
3. Condiciones de procesado que debe superar el ingrediente encapsulado antes de la liberación.
4. Concentración óptima del material activo de la microcápsula.
5. Mecanismo por el cual será liberado el ingrediente de la microcápsula.
6. Tamaño de partícula, densidad y estabilidad del ingrediente encapsulado.
7. Existencia de limitaciones de costo del ingrediente encapsulado (Rustrian, 2012).

La arquitectura de las microcápsulas suele dividirse en diversas clasificaciones arbitrarias solapadas o sobrepuestas. Una de tales clasificaciones se conoce como matriz de encapsulación.

La estructura más simple es en la que una esfera está rodeada por una pared o membrana de grosor uniforme, análoga a la de un huevo de gallina. En este diseño, el material del núcleo está enterrado a diversas profundidades dentro de la cáscara. A esta microcápsula se ha denominado estructura de partícula única. También es posible diseñar microcápsulas que tienen varios núcleos diferentes dentro de la misma cápsula o, más comúnmente numerosas partículas nucleares incrustadas



en una matriz continua o material de la pared. A este tipo de diseño se llama estructura agregada. En la estructura agregada, las partículas no tienen que ser todas del mismo material en caso de que se desee, puede conseguirse el control del tamaño de partícula. Esta técnica ha sido aplicada a numerosos materiales para mejorar las propiedades de distribución de tamaño (Bakan, 1978).

Otro diseño conocido de microcápsula es la estructura en multiestratos en la que diferentes capas de paredes concéntricas pueden tener la misma composición o composiciones muy diferentes. En este caso las múltiples paredes son colocadas en torno a un núcleo al objeto de conseguir muchas finalidades múltiples relacionadas con la manufactura de las cápsulas, su almacenamiento subsiguiente y liberación controlada (Rahman, 2003).

1.3.2.1 Agentes encapsulantes

Al encapsular, la primera necesidad es seleccionar un material de revestimiento o cobertura adecuado, al que se denomina matriz encapsuladora. En la bibliografía científica muchos investigadores han llamado el material de cobertura como la corteza, material de pared o agente encapsulante (Bakan, 1978).

Las sustancias de cubierta, que básicamente son materiales en forma de película, se pueden elegir dentro de una amplia variedad de polímeros sintéticos o naturales, dependiendo del material a revestir y de las características deseadas en las microcápsulas finales. La composición de los materiales de cobertura es la principal determinante de las propiedades funcionales de la microcápsula y de cómo puede usarse para mejorar el rendimiento de un ingrediente particular. El material ideal de revestimiento tiene que reunir las características siguientes:

1. Buenas propiedades reológicas a alta concentración y fácil manipulación durante la encapsulación.
2. Capacidad de dispersar o emulsionar el material activo y de estabilizar la emulsión producida.
3. Inactividad con el material a encapsular tanto durante el procesado como en el almacenamiento prolongado.
4. Capacidad de sellar herméticamente y contener el material activo dentro de la estructura durante el procesado y almacenamiento.



Capítulo 1

5. Capacidad para eliminar totalmente el disolvente u otros materiales usados durante el proceso de encapsulación mediante desecación o condiciones alternativas de volatilización del disolvente.
6. Capacidad para impartir la máxima protección al material activo frente a las condiciones ambientales (oxígeno, calor, luz, humedad).
7. Solubilidad en disolventes aceptables admitidos por la industria de alimento (agua, etanol).
8. Carencia de reactividad química con el material activo.
9. Que posea propiedades de solubilización deseables o específicas de las capsulas y de propiedades de liberación del material activo de la capsula.
10. De bajo costo y grado alimenticio.

Puesto que ningún material de revestimiento satisface todos los criterios citados, en la práctica los materiales de cobertura se emplean en combinaciones o con adición de modificadores como secuestradores de oxígeno, antioxidantes, agentes quelantes o agentes con actividad de superficie (surfactantes) (Pegg, 1999).

La goma arábica presenta buenas propiedades emulsificantes y ha reportado buenas eficiencias de microencapsulación al combinarse con la maltodextrina. (Rustrian, 2012).

1.3.2.2 Maltodextrina

Las maltodextrinas, $(C_6H_{12}O_5)_n \cdot H_2O$, son polisacáridos nutritivos no edulcorantes consistentes en unidades de D-glucosa unidas por enlace α -[1-4]. No obstante para designar a las maltodextrinas, tienen que tener un contenido de azúcar reductor o equivalencia de dextrosa. (ED) inferior a 20. Las maltodextrinas se preparan en forma de polvo blanco o disoluciones concentradas por hidrólisis parcial del almidón de maíz con enzimas o ácidos adecuados e inócuos (Rahman, 2003).

En la selección de materiales de pared para encapsular, la maltodextrina es una buena solución entre el costo y la efectividad; tiene baja viscosidad a alta proporción de sólidos, son inodoras, incoloras y de baja viscosidad a altas concentraciones, además permiten la formación de polvos de libre flujo sin enmascarar el sabor original, está disponible en diferentes pesos moleculares y son extensivamente utilizados en la industria de alimentos (Parra-Huertas, 2010).

1.3.2.3 Goma arábica

La goma arábica (GA) es un coloide obtenido de las incisiones practicadas sobre algunas especies de acacias africanas. En su estado natural se presenta en trozos irregulares, más o menos transparentes, de color ámbar, con estructura vidriosa. Por acción hidrolítica de los ácidos produce arabinosa, ramnosa, galactosa y ácido glucorónico. Puede por lo tanto considerarse un polisacárido de arabános, galactános y ácidos urónicos.

1.3.3 Técnicas de micro encapsulación

Existen diversos métodos para la producción de microcápsulas. En general, estos métodos se pueden dividir en tres grupos (Yañez & Chaires, 1999):

- Procesos físicos: secado por aspersion.
- Procesos químicos: polimerización interfacial e inclusión molecular.
- Procesos fisicoquímicos: coacervación, liposomas y gelificación iónica.

1.3.3.1 Secado por aspersion

Es la transformación de un fluido en material sólido, atomizándolo en forma de gotas minúsculas en un medio de secado en caliente (Pedroza, 2002). En la figura 1.1 se muestra el proceso de secado por aspersion.

La distribución del tamaño de las partículas obtenidas por este método es, en general, menor a 100 μ . Se distinguen los siguientes pasos:

1. La preparación de la emulsión o suspensión del material a encapsular en una solución encapsuladora.
2. La atomización y la deshidratación de las partículas atomizadas.

Una de las grandes ventajas de este proceso, además de su simplicidad, es que es apropiado para materiales sensibles al calor, ya que el tiempo de exposición a temperaturas elevadas es muy corto (Villena & Gallardo, 2009).

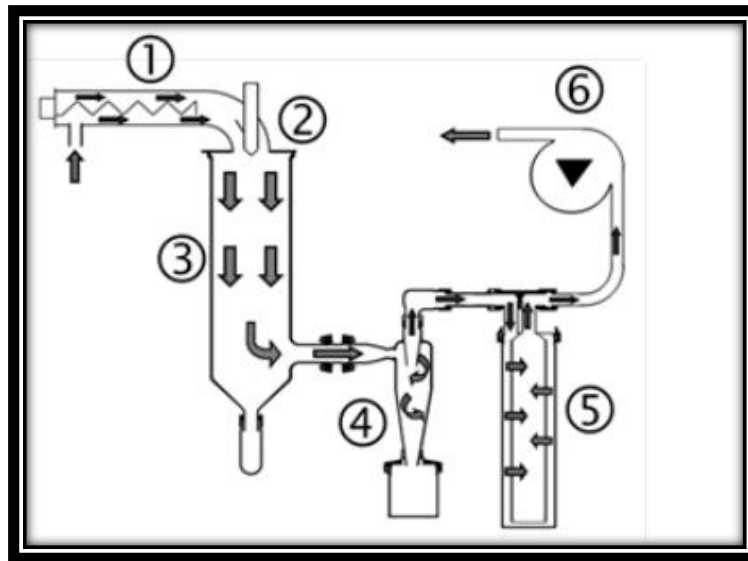


Figura 1.1 Proceso de secado por aspersión empleado (Mini Spray Drier Buchi). 1. Calentamiento: Calienta la entrada de aire a la temperatura deseada. 2. Formación de gotas. 3. Cámara de secado: Intercambio de calor por conducción entre el gas de secado y las gotas de la muestra. 4. Colector de partículas (Ciclón) 5. Filtro de salida: Colecta las partículas más finas. 6. Gas de secado.

La técnica de secado por aspersión se define como la transformación de un fluido en material sólido, atomizándolo en forma de gotas minúsculas en un medio de secado en caliente. La distribución del tamaño de las partículas obtenidas por este método es, en general, menor a 100μ . Se consideran dos etapas sucesivas:

(a) La preparación de la emulsión o suspensión del material por encapsular en una solución encapsulante o material pared (b) la atomización y la deshidratación de las partículas atomizadas. Una de las grandes ventajas de este proceso, además de su simplicidad, es su adecuación a materiales sensibles al calor, pues el tiempo de exposición a temperaturas elevadas es muy corto.

La selección de la configuración del atomizador depende de la naturaleza y viscosidad de la alimentación y de las características deseadas del producto seco. Cuanto mayor sea la energía utilizada, serán más finas las gotas formadas. Para una misma cantidad de energía, el tamaño de partículas



formadas incrementa con el aumento en la tasa de alimentación, así mismo cuando la viscosidad y la tensión superficial del líquido inicial son altas.

En el secado de microorganismos, la especie, la cepa del cultivo, las condiciones de secado y los agentes encapsulantes empleados condicionaran la viabilidad del microorganismo. La temperatura de entrada, podría ser seleccionada de acuerdo a las propiedades termo gravimétricas y características físicas de los materiales empleados en la mezcla. El flujo, el tamaño de gota y la eficiencia de la bomba definirán entre otros la temperatura de salida del secador. Los agentes encapsulantes empleados en el secado por aspersión suelen ser de origen proteico y carbohidratos tipo polisacáridos. Estos materiales poseen alta capacidad emulsificante y generan microcápsulas de tamaño adecuado, inferior a 50 micrómetros. Comúnmente se emplea leche desnatada en polvo, aislado de proteína de soya, goma arábiga, pectina, almidón (modificado), maltodextrina y azúcares, a su vez se adicionan sustancias con propiedades funcionales o con efecto protector.

1.3.3.2 Aplicación del secado por aspersión en BAL

La preservación de los cultivos ácido lácticos por técnicas de microencapsulación como la tecnología de secado por aspersión ha sido ampliamente estudiada, como un proceso industrial alternativo para la estabilización de estos microorganismos, considerando los altos costos energéticos que implican otros procesos de uso habitual como son la congelación y liofilización (Peighambardoust & Golshan, 2011).

La microencapsulación de bacterias ácido lácticas mejora la estabilidad del organismo durante el procesado, almacenamiento y paso a través del tracto gastrointestinal, en comparación con células libres, al retener y proteger las células al interior de materiales encapsulantes (Kailasapathy, 2006) (Ranadheera & Baines, 2010). Numerosas matrices han sido evaluadas entre ellas proteínas, polisacáridos, azucares, yogurt, leche descremada, leche de soya en mezcla con agentes estabilizantes (Kumar, 2007) (Semyonov, 2004).

La viabilidad tras el proceso y durante el almacenamiento suele ser adecuada (mayor a 10^6) después de 6 semanas de almacenamiento entre 4 y 21°C (Ranadheera & Baines, 2010), expresando la tasa de supervivencia como ecuación 3.1 (Kearney & Stanton, 2009).

$$\text{Supervivencia}(\%) = \left[\frac{\log(N)}{\log(N_i)} \right] * 100 \quad (1.1)$$

Donde N_i representa el número de bacterias en la suspensión inicial y N el número de bacterias en el producto seco. Algunos autores han reportado diferencias en la tasa de supervivencia en diversos microorganismos. A temperaturas de $170 \pm 2^\circ\text{C}$ y de salida en un rango entre 80 y 85°C en muestras de yogurt fermentadas, la tasa de supervivencia de *S. thermophilus* y *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* presenta grandes diferencias con recuentos en la muestra seca $6,5 \times 10^7$ ufcg⁻¹ y $3,5 \times 10^5$ ufcg⁻¹ respectivamente.

Lb. delbrueckii presenta menor tolerancia térmica que *S. thermophilus* posiblemente debido a daños en la membrana que pueden ocurrir durante el secado, en este caso se sugiere el uso de estabilizadores que pudiesen actuar como termoprotectores (Kearney & Stanton, 2009). Otros autores afirman que el descenso en la tasa de supervivencia es consecuencia de la deshidratación térmica y el estrés oxidativo impuesto a las bacteria (Manojlovic & Nedovic, 2010), se sugiere por lo tanto un estricto control de los parámetros de operación principalmente la temperatura de entrada, flujos, tamaño de gota. Considerando además, la tolerancia al calor que exhiba cada cepa en particular (Kearney & Stanton, 2009).

1.3.4 Modelación matemática de procesos

La modelación matemática de procesos es una herramienta de gran utilidad para el ingeniero ya que le permite conocer, entender e interpretar el mundo físico en el proceso de toma de decisiones (Gomez & Calderón, 2008). Los avances de la computación han permitido el desarrollo de modelos matemáticos cada vez más detallados y precisos que luego se utilizan en el diseño, escalado, optimización y control de procesos de una forma rápida y económica, al reducir los costos por la eliminación de parte del trabajo experimental en la industria (Rivera, 2006).

Desde el punto de vista de la ingeniería de procesos, los modelos matemáticos se clasifican en tres grandes categorías (Ruiz, 2010):

- Modelos fenomenológicos o de caja blanca, modelo obtenido mediante un estudio teórico del proceso; sus principios de formulación son las ecuaciones de conservación (materia, energía y/o entropía) leyes generales y ecuaciones constitutivas. El grado de complejidad del mismo es función directa del grado de detalle utilizado y constituye el núcleo fundamental de los modelos utilizados por los ingenieros.



Capítulo 1

- Modelos empíricos, se construyen mediante experimentación y observación, haciendo luego uso de datos experimental es para ajustar los parámetros en una estructura matemática dada.
- Modelos semifísicos o de caja gris, son una combinación de los dos tipos anteriores, donde algunas características del proceso están descritas mediante correlaciones empíricas particulares para la condición dada. Estos modelos se emplean fundamentalmente cuando el conocimiento fenomenológico resulta insuficiente para describir la situación física real del sistema que se modela.

Un modelo matemático de un proceso se define como un conjunto de ecuaciones que expresan las características esenciales del fenómeno o proceso en términos matemáticos. Estos modelos se caracterizan por su universalidad, empleo de un lenguaje preciso, sin ambigüedades y facilidades de manipulación analítica e implementación computacional. Todo modelo posee estructura y parámetros. La estructura es la descripción cualitativa del proceso mediante ciertas ecuaciones y los parámetros son valores constantes que modifican la estructura (Kuehl, 2001).

La ventaja que presenta la modelación de procesos es debido a que a partir de datos reales (los que se utilizaran para obtener un modelo matemático si no existe y/o validar los resultados obtenidos al resolver el modelo o la simulación en sí) se pueden obtener información que permitirán el análisis, la síntesis y la optimización, además no se requiere una gran cantidad de experimentos (lo que incrementan los costos en la adquisición de reactivos e insumos) ya que si el modelo utilizado es el adecuado, la reproducibilidad de resultados es excelente (García González, 2008).



Capítulo 2

Objetivos



2.1 Objetivo general

Modelar el rendimiento del proceso, supervivencia, actividad acuosa e índice de blancura de *Lactobacillus plantarum*.

2.1 Objetivos específicos

1. Determinar el rendimiento del proceso de secado por aspersión.
2. Determinar la supervivencia de *Lactobacillus plantarum* después del proceso, así como la actividad acuosa e índice de blancura de los polvos obtenidos después del secado.
3. Modelar matemáticamente el rendimiento, la actividad acuosa, el índice de blancura y la viabilidad del *L. plantarum* después del secado por aspersión mediante un modelo lineal de regresión múltiple.



Capítulo 3

Problemas a resolver.



3.1 Problemas a resolver

La cepa de *Lactobacillus plantarum* es una cepa autóctona aislada de la taberna en trabajos previos. Se han realizado diversos trabajos en donde esta cepa ha demostrado tener características probióticas importantes. Por lo que en este trabajo se están determinando las condiciones de secado por aspersión que permiten obtener el microorganismo estable en una cápsula,

Aunado a lo anterior, no se cuentan con modelos matemáticos para esta cepa que permita optimizar y modelar el rendimiento y supervivencia de este microorganismo.



Capítulo 4

Procedimiento y descripción de las actividades realizadas

4 Procedimiento y descripción de las actividades realizadas

4.1 Secado por aspersión

4.1.1 Obtención del pellet

Lactobacillus plantarum (BAL-03) fue reproducido en caldo MRS (DIBICO) durante 12 horas. Posteriormente, el caldo se centrifugó a 4000 rpm a 4°C durante 20 minutos en una centrífuga (EPPENDORF) y el pellet fue guardado para su posterior utilización.

4.1.2 Preparación de los agentes encapsulantes

Como agente encapsulante se empleó una mezcla de Maltodextrina - Goma Arábica 50 – 50 % (v/v). La concentración de las soluciones de maltodextrina (HYNAMALT) fueron de 10 y 30% (p/v) y la de Goma Arábica (HYCEL DE MEXICO, S.A de C.V) de 30% (p/v). Las soluciones se hidrataron con agua destilada durante 24 horas. Posteriormente se esterilizaron por separado en autoclave a 121 °C durante 15 min.

4.1.3 Secado por aspersión

El pellet del microorganismo se resuspendió en una solución de Maltodextrina-Goma Arábica en una proporción de 50% - 50 v/v, homogeneizando por 5 minutos con un homogeneizador Turrax marca IKAT. Seguido se sometió a secado por aspersión utilizando un secador por aspersión tipo laboratorio Marca Buchi, MINI SPRAY DRIER MODELO B-290.

Se evaluó el efecto de la temperatura del aire de entrada (100 y 160° C) y el flujo de alimentación al secador (3 y 15 mL/min).

4.2 Caracterización de los polvos

El polvo obtenido se evaluó en términos de la actividad acuosa, rendimiento del proceso de secado, color y supervivencia del microorganismo después del proceso de secado por aspersión.

4.2.1 Determinación de la actividad acuosa de los polvos

La actividad acuosa se determinó con la ayuda de un higrómetro marca Hygropalm.

4.2.2 Colorimetría

Se realizaron análisis de color en un colorímetro marca ColorTec-PCM a las muestras previamente ya almacenadas en bolsas al vacío, y se determinaron los parámetros de color L, a y b. El índice de blancura se calculó con la ayuda de la ecuación 4.1.

$$\%IB = 100 - \sqrt{\left(100 - \frac{L}{100}\right)^2 + \frac{a^2}{100} + \frac{b^2}{100}} \quad (4.1)$$

4.2.3 Rendimiento del secado por aspersion

El rendimiento del proceso de secado se evaluó de acuerdo a la relación de los gramos obtenidos de polvo y la concentración de sólidos en la solución de alimentación (concentración de agente encapsulante).

$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{polvo_obtenido_}(g)}{\text{agente_encapsulante_}(g)} * 100 \quad (4.2)$$

4.2.4 Supervivencia de *L. plantarum*

Con base a la técnica reportada por Riveros Ferrer, & Bórquez (2009) y (Rustrian, 2012), se rehidrató el polvo obtenido después del proceso de secado con 9 mL de solución de agua estéril. Se realizaron diluciones seriadas en tubos de ensaye con agua estéril, hasta el orden 10^{-7} . Se sembró 0.1 mL de estas diluciones en cajas Petri con agar MRS (CONDA) realizándose por triplicado y se incubaron por 48 h a 35° C en una incubadora (THERMO ELECTRO CORPORATION). Se calculó el porcentaje de supervivencia de *L. plantarum* después del proceso de secado mediante la ecuación 1.1, mostrada en la página 13:

$$\text{Supervivencia}(\%) = \left[\frac{\log(N)}{\log(N_i)} \right] * 100$$

Donde N (UFC/mL) es el número de microorganismos determinados al final del proceso y N_i (UFC/mL) es el número de microorganismos determinados antes del proceso.

4.3 Diseño experimental

Se realizó un diseño experimento ortogonal aleatorio L8. Los factores y niveles utilizados fueron: temperatura del aire de secado (100 y 160° C), flujo de alimentación (3 y 14 mL/min) y concentración de agente encapsulante Maltodextrina (10 y 30% p/v). Todos los tratamientos se realizaron por cuadruplicado (Cuadro 4.1). Se caracterizaron las micro cápsulas en términos

de color (Índice de blancura %IB), supervivencia de BAL-03 (%), el rendimiento del proceso de secado por aspersión (%) y la actividad acuosa (a_w).

Cuadro 4.1 Diseño experimental ortogonal L8

Temperatura (°C)	Flujo (ml/min)	MD % p/v
160	3	10
100	15	30
100	3	10
160	15	30
100	15	30
160	3	10

MD = Maltodextrina

4.4 Análisis estadístico

Se analizaron estadísticamente los resultados con un análisis de varianza multifactorial con un 95% de nivel de confianza. Se consideraron efectos significativos en las variables cuando $p < 0.05$. El método empleado para discriminar entre las medias fue el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que cada par de medias es significativamente diferente, cuando la diferencia real es igual a 0.

Para la modelación se utilizó un modelo de regresión lineal múltiple con un procedimiento de ajuste de mínimos cuadrados ordinarios, según la ecuación 4.3:

$$Y = a + bT + cF + dMD \quad (4.3)$$

Donde Y es la variable de respuesta, a, b, c y d son los parámetros a calcular y T es la temperatura (°C), F el flujo de alimentación (mL/min) y MD la concentración de maltodextrina (% p/v).

Todos los análisis se realizaron utilizando el programa Statgraphics Centurion XVI.



Capítulo 5

Resultados

5.1 Resultados

5.1.1 Determinación de actividad acuosa

Se realizó un análisis de varianza para la actividad acuosa de la microencapsulación de *L. plantarum* aspersión (Cuadro 5.1). Dicho análisis mostró que la temperatura de entrada y el flujo de alimentación tienen un efecto estadísticamente significativo sobre la actividad acuosa ($p < 0.05$) con un 95% de nivel de confianza. Sin embargo, se observa que la concentración de Maltodextrina como agente encapsulante no tuvo un efecto significativo.

Cuadro 5.1 Análisis de varianza para la actividad acuosa de los polvos

Fuente	Suma de Cuadrados	de GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Temperatura	0.0511584	1	0.0511584	12.59	0.0014
B: Flujo de alimentación	0.0226569	1	0.0226569	5.57	0.0254
C: Concentración de Maltodextrina	0.0011449	1	0.0011449	0.28	0.5998
RESIDUOS	0.113809	28	0.00406459		
TOTAL (CORREGIDO)	0.211706	31			

*Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

La prueba de múltiples rangos para la actividad acuosa por temperatura se muestra en el cuadro 5.2. En este cuadro se muestra que a 100°C se obtienen una mayor actividad acuosa en los polvos obtenidos después del secado. Además es posible observar que los valores oscilaron entre 0.22 y 0.31 de actividad acuosa, lo cual concuerda con los valores obtenidos por (Rustrian, 2012) que microencapsuló taberna (que contiene bacterias ácido lácticas) y sus valores de actividad acuosa oscilaron entre 0.23 y 0.37.

Nuestro resultado de actividad acuosa es positivo para la estabilidad de los polvos al presentar menos agua libre disponible para reacciones bioquímicas y por lo tanto favorecer la vida útil del producto (Montes Ramírez, 2013).

Cuadro 5.2 Prueba de múltiples rangos para la actividad acuosa por temperatura

Temperatura	Actividad acuosa
160 °C	0.228025 a
100 ° C	0.315625 b

La prueba de múltiples rangos para la actividad acuosa por flujo de alimentación se muestra en el cuadro 5.3. En este cuadro se muestra que a un mayor flujo de 15 mL/min se obtienen una actividad acuosa mayor en los polvos. Por lo que a mayor velocidad de alimentación es necesario suministrar más energía térmica para asegurar la evaporación del contenido de humedad. (Chao & Yanping, 2012) demostraron que al encapsular *Lactobacillus* hay cierta tendencia de aumento en la actividad acuosa al incrementar la velocidad de alimentación, esto es debido a que mayor flujo de alimentación (a temperatura constante), mayor es la cantidad de agua que es necesario retirar.

Cuadro 5.3 Prueba de múltiples rangos para actividad acuosa por flujo de alimentación

Flujo (mL/min)	Actividad acuosa
3	0.2273 a
15	0.3163 b

5.1.2 Modelación de actividad acuosa

La ecuación 5.1 muestra los resultados de ajustar un modelo de regresión lineal múltiple para describir la relación entre actividad acuosa y 3 variables independientes. La ecuación 5.1 del modelo ajustado queda:

$$A_w = 0.416238 - 0.00146 * T + .00742083 * F - 0.00107 * MD \quad (5.1)$$

Donde A_w es la actividad acuosa, T es la temperatura (°C), F el flujo de alimentación (mL/min) y MD es la concentración de maltodextrina (%p/v).

Con una R-Cuadrada de 46.24% de la variabilidad en actividad acuosa, lo que significa que se podría buscar otro modelo para ajustar mejor la ecuación y describa mejor la relación entre actividad acuosa y las 3 variables.

Puesto que el valor-P en el cuadro 5.4 es menor que 0.05, existe una relación estadísticamente significativa entre las variables con un nivel de confianza del 95.0%.

Cuadro 5.4 Análisis de varianza del modelo para actividad acuosa

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo	0.0978974	3	0.0326325	8.03	0.0005
Residuo	0.113809	28	0.00406459		
Total (Corr.)	0.211706	31			

Para determinar si el modelo puede simplificarse, note en el cuadro 5.1 que el valor-P más alto de las variables independientes es 0.5998, que corresponde a la concentración de maltodextrina. Puesto que el valor-P es mayor o igual que 0.05, ese término no es estadísticamente significativo con un nivel de confianza del 95.0% ó mayor. Consecuentemente, consideramos eliminar la concentración de maltodextrina (MD) del modelo, simplificando la ecuación 5.2.

$$A_w = 0.416238 - 0.00146 * T + .00742083 * F \quad (5.2)$$

Donde A_w es la actividad acuosa, F el flujo de alimentación y T la temperatura ($^{\circ}\text{C}$).

5.1.3 Análisis de color.

El índice de blancura es una medida de amplio uso en la industria textil y del papel y se ha extendido a la de medicamentos, plásticos, cerámica y alimentos. Una superficie blanca ideal debe tener un Índice de blancura (IB) igual a 100; cuando la diferencia entre el blanco ideal y el de la superficie que se evalúa se incrementa entonces IB disminuye (Giraldo & Montoya, 2012).

El análisis de varianza que se realizó del análisis de color de los polvos obtenidos de la microencapsulación de *L. plantarum* se muestra en el cuadro 5.5. Dicho análisis mostró que el flujo de alimentación y la concentración de agente encapsulante maltodextrina tienen un efecto estadísticamente significativo sobre el índice de blancura ($p < 0.05$) con un 95% de nivel de confianza. No obstante, la temperatura no tuvo un efecto significativo.

Cuadro 5.5 Análisis de varianza para el índice de blancura

Fuente	Suma de Cuadrados	de GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Temperatura	0.0772873	1	0.0772873	0.14	0.7157
B: Flujo de alimentación	11.0823	1	11.0823	19.42	0.0001
C: Concentración de maltodextrina	6.63	1	6.63	11.62	0.0020
RESIDUOS	15.9816	28	0.57077		
TOTAL (CORREGIDO)	27.8061	31			

*Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

La prueba de múltiples rangos para índice de blancura por flujo se muestra en el cuadro 5.6. En este cuadro se muestra que a menor flujo, 3 mL/min los polvos se acercan más al color blanco.

Cuadro 5.6 Prueba de múltiples rangos para índice de blancura por flujo

Flujo (mL/min)	Índice de blancura
15	82.913 a
3	84.8825 b

El método empleado para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher para índice de blancura por maltodextrina (cuadro 5.7) se observa que a mayor concentración de la goma los polvos son más blancos, esto es debido a la diferencia de color entre las gomas, ya que la goma arábica presenta un color café oscuro y la maltodextrina es de color blanco, por lo que al aumentar la concentración de maltodextrina, la mezcla es menos oscura comparada con la solución que contiene menor concentración de maltodextrina.

Cuadro 5.7 Prueba de múltiples rangos para índice de blancura por concentración de maltodextrina

Concentración de Maltodextrina (% p/v)	Índice de blancura
10	83.0835 a
30	84.712 b

5.1.4 Modelación del índice de blancura.

La ecuación 5.3 muestra los resultados de ajustar un modelo de regresión lineal múltiple para describir la relación entre IB y 3 variables independientes.

$$\%IB = 83.5131 + 0.00179452 * T - 0.164122 * F + 0.0814248 * MD \quad (5.3)$$

Donde IB es el índice de blancura, T es la temperatura (°C), F el flujo de alimentación (mL/min) y MD es la concentración de maltodextrina (%p/v).

Se obtuvo una R-Cuadrada de 42.52% de la variabilidad en % IB. Por lo que se podría buscar otro modelo para ajustar mejor la ecuación y que describa mejor la relación entre el % de índice de blancura y las 3 variables (temperatura de entrada, flujo de alimentación y concentración de maltodextrina).

Puesto que el valor-P en el cuadro 5.8 es menor que 0.05, existe una relación estadísticamente significativa entre las variables con un nivel de confianza del 95.0%.

Cuadro 5.8 Análisis de varianza para el modelo del índice de blancura

Fuente	Suma de Cuadrados	de GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo	11.8245	3	3.9415	6.91	0.0013
Residuo	15.9816	28	0.57077		
Total (Corr.)	27.8061	31			

En el cuadro 5.6 observamos que el valor-P para temperatura de entrada al secador es mayor que 0.05, por lo que esta variable no tiene un efecto significativo en el índice de blancura, razón por la cual procedemos a eliminarla del modelo, quedando:

$$\%IB = 83.5131 - 0.164122 * F + 0.0814248 * MD \quad (5.4)$$

Donde IB es el índice de blancura, F el flujo de alimentación (mL/min) y MD es la concentración de maltodextrina (%p/v).

5.1.5 Determinación del rendimiento del proceso de secado por aspersión

El cuadro 5.9 es el análisis de varianza multifactorial de los factores evaluados durante el secado por aspersión (temperatura de entrada, flujo de alimentación y concentración de MD) para la eficiencia de la microencapsulación de *L. plantarum*. Con este análisis se determinó que la temperatura de entrada y el flujo de alimentación tienen un efecto estadísticamente significativo sobre la actividad acuosa ($p < 0.05$) con un 95% de nivel de confianza. Sin embargo, se observa que la concentración de maltodextrina como agente encapsulante no tuvo un efecto significativo.

Cuadro 5.9 Análisis de varianza para eficiencia del proceso de secado por aspersion

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Temperatura	1451.84	1	1451.84	15.06	0.0006
B:Flujo	2076.96	1	2076.96	21.55	0.0001
C:Concentración de maltodextrina	358.711	1	358.711	3.72	0.0639
RESIDUOS	2699.0	28	96.3929		
TOTAL (CORREGIDO)	15915.4	31			

Los valores de eficiencia del proceso oscilan entre 30 y 57%, los cuales coinciden con los reportados por (Su, Lin, & Chen, 2007) y (Rustrian, 2012) quienes obtuvieron valores de eficiencias de 45-65% y 22-55% respectivamente. Nuestros porcentajes son relativamente bajos debido a que en los tratamientos donde la temperatura era menor y el flujo mayor (100°C y 15 mL/min) presentamos los menores rendimientos, ya que el tiempo de residencia de nuestra solución fue menor en la cámara de secado y la temperatura fue demasiado baja para lograr una transferencia de calor eficiente, como consecuencia se observó la formación de una capa gruesa de gomas pegada en toda la cámara de secado.

Al tener un efecto significativo, la temperatura y el flujo de alimentación sobre la eficiencia del proceso de secado por aspersion se procedió a realizar las pruebas de múltiples rangos para ambos parámetros. En el cuadro 5.10 y 5.11 se indican la prueba de múltiples rangos para la eficiencia por la temperatura y por flujo, respectivamente.

Cuadro 5.10 Prueba de múltiples rangos para eficiencia del proceso de secado por aspersión por temperatura

Temperatura (° C)	Eficiencia del proceso de secado por aspersión
100	36.9019 a
160	51.6591 b

Cuadro 5.11 Prueba de múltiples rangos para eficiencia del proceso de secado por aspersión por flujo

Flujo (mL/min)	Eficiencia del proceso de secado por aspersión
15	30.7996
3	57.7614

En las figuras 5.1 y 5.2 podemos apreciar que a 160°C y a un flujo de 3 mL/min se obtuvieron los mayores rendimientos del proceso. Esto debido a que a mayor temperatura y a menor flujo se logró una mejor transferencia de calor debido a que se logra evaporar mayor cantidad de agua. Esta tendencia también concuerda con lo reportado por (Rustrian, 2012), que afirma que la eficiencia del proceso incrementa al disminuir la velocidad de alimentación y aumentar la temperatura del aire de secado.

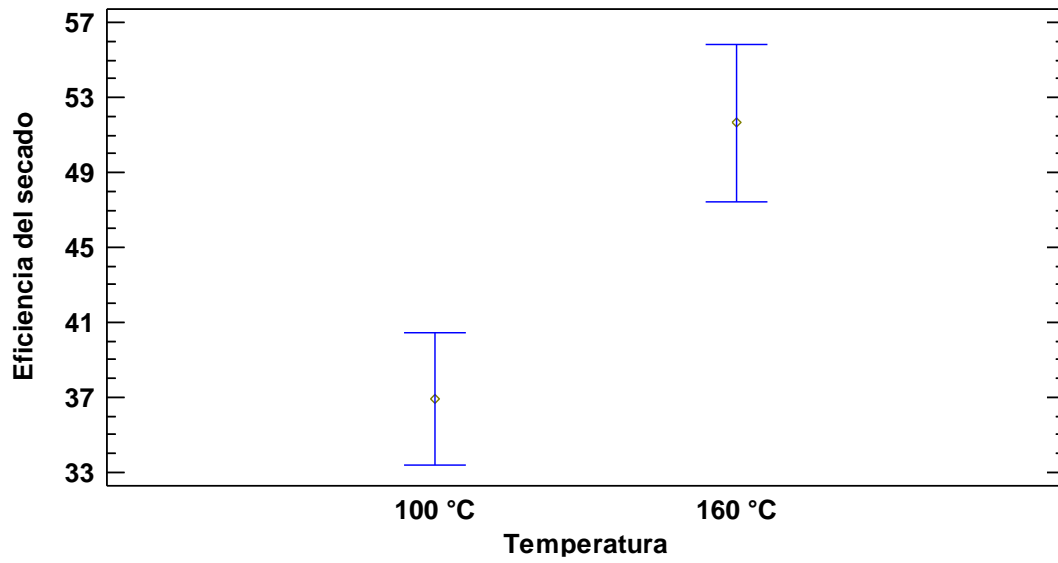


Figura 5.1 Efecto de la temperatura del aire de entrada sobre la eficiencia del secado por aspersión.

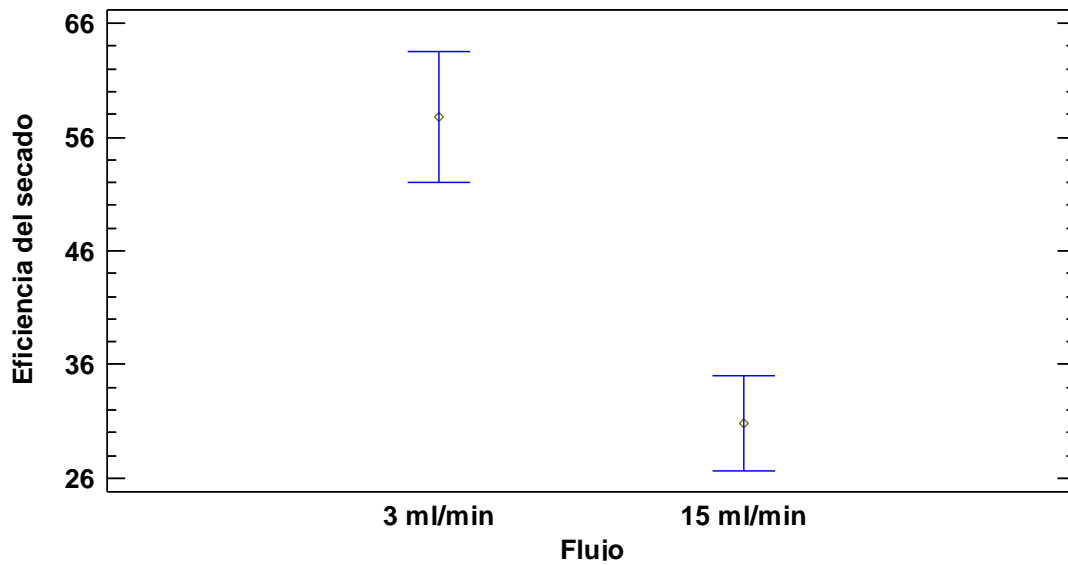


Figura 5.2 Efecto del flujo de alimentación sobre la eficiencia de secado por aspersión.

5.1.6 Modelación del rendimiento del proceso de secado por aspersión

La ecuación 5.4 muestra los resultados de ajustar un modelo de regresión lineal múltiple para describir la relación entre la eficiencia del proceso de secado por aspersión y 3 variables independientes.

$$\%EM = 44.5063 + 0.245954 * T - 2.24681 * F - 0.598925 * MD \quad (5.4)$$

Donde, EM es la eficiencia de la microencapsulación, F el flujo de alimentación (mL/min), T es la temperatura (°C) y MD es la concentración de maltodextrina (%p/v).

El estadístico R-Cuadrada nos indica que el modelo así ajustado explica 83.04% de la variabilidad en la eficiencia del proceso, lo que significa que la calidad del modelo para replicar los resultados es buena.

En el cuadro 5.12 se observa que el valor-P es menor que 0.05, lo que indica que existe una relación estadísticamente significativa entre las variables con un nivel de confianza del 95.0%.

Cuadro 5.12 Análisis de varianza del modelo para la Eficiencia de la microencapsulación de BAL-03

Fuente	Suma de Cuadrados	de GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo	13216.4	3	4405.48	45.70	0.0000
Residuo	2699.0	28	96.3929		
Total (Corr.)	15915.4	31			

Al no tener la concentración de maltodextrina un efecto significativo (cuadro 5.9), simplificando la ecuación ajustada queda:

$$\%EM = 44.5063 + 0.245954 * T - 2.24681 * F \quad (5.5)$$

Donde, EM es la eficiencia de la microencapsulación, F el flujo de alimentación (mL/min) y T es la temperatura (°C).

5.1.7 Determinación de la supervivencia de *L. plantarum*

Los valores de supervivencia oscilaron entre 93 y 96%, los cuales son superiores a los reportados por (Rustrian, 2012) cuyas supervivencias fueron de 80 y 86%. La diferencia podría deberse a que ella utilizó una temperatura entre 80 y 100°C y en este trabajo se utilizaron temperaturas de 100 y 160°C. La utilización de altas temperaturas para eliminar el agua durante el secado por aspersión hace que este medio sea útil solo para cepas con mayor grado de termo-resistencia (Gómez-Zavaglia, 2010).

Por otra parte, (Chao & Yanping, 2012) microencapsularon *L. plantarum* y obtuvieron las máximas supervivencias con un temperatura de entrada de 140°C y un flujo de 1 mL/min. Al incrementar la temperatura del aire de entrada puede proporcionar una fuerza de conducción más alta para eliminar la humedad y por lo tanto resultar en una menor cantidad de agua residual en el producto final y una baja actividad acuosa (Telang & Thorat, 2010).

Diferentes factores del proceso de secado juegan un papel importante en la supervivencia, principalmente a un corto tiempo de residencia a altas temperaturas, lo que conlleva a la evaporación instantánea, y permite al organismo no incrementar su temperatura interna (Edelson-Mammel & Buchanan, 2004). Lo anterior provoca que las células incrementen su potencial de sobrevivencia por exposición a un estrés durante el secado, y por lo tanto, las células comienzan a adaptarse y adquieren mayor resistencia a subsecuentes tipos de estrés severos que podrían ser letales al exponerlos a ellos inicialmente y de manera directa (Arku, 2008). La inactivación térmica es causada por la desnaturalización de componentes celulares críticos, principalmente ADN y ARN, mientras que los daños en la membrana citoplasmática generalmente se consideran el principal mecanismo de la inactivación por deshidratación porque hay una pérdida de varios componentes intracelulares cuando la membrana se daña (Joshi & Thorat, 2011).

Por otra parte, varios autores, (Leeber, 2009) y (Stack, 2009) han reportado que las bacterias del género *Lactobacillus* tienen la característica de producir exopolisacaridos (EPS) que se encuentran involucrados con propiedades específicas para una acción probiótica, como la resistencia a estrés. Asimismo, Gonzalez (2013) reportó producciones de 135mg/L de EPS en esta cepa de *Lacotabacillus*. Los polisacáridos encontrados durante

ese estudio fueron moléculas de EPS ricas en galactosa y glucosa, estos EPS juegan un papel importante en la determinación de las propiedades de la superficie celular como la formación de biopelículas, esto podría sugerir que las bacterias son resistentes a los procesos de secados con temperaturas altas, y probablemente los EPS podrían ser los responsables de supervivencias con valores altos.

El cuadro 5.13 describe el análisis de varianza multifactorial de los factores evaluados para la supervivencia del *L. plantarum*. Dicho análisis mostró que ningún factor tiene un efecto estadísticamente significativo ($p < 0.05$) para la supervivencia del microorganismo con un 95.0% de nivel de confianza. Esto podría indicarnos que nuestra cepa es termo resistente a las temperaturas empleadas (100 y 160°C) y que los valores de flujo de alimentación y concentraciones de maltodextrina probados no afectan en nuestros valores de supervivencia, pudiendo ser parámetros a emplear para futuros trabajos al tener un proceso de secado por aspersión estable.

Cuadro 5.13 Análisis de varianza para la supervivencia de *L. plantarum*.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Temperatura	43.6651	1	43.6651	1.68	0.2052
B:Flujo de alimentación	9.92181	1	9.92181	0.38	0.5414
C:Concentración de maltodextrina	15.8823	1	15.8823	0.61	0.4407
RESIDUOS	726.829	28	25.9582		
TOTAL (CORREGIDO)	824.094	31			

*Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

5.1.7 Modelación de la supervivencia de BAL-03

La ecuación 5.6 muestra los resultados de ajustar un modelo de regresión lineal múltiple para describir la relación entre Supervivencia y 3 variables independientes:



Capítulo 6

$$\% \text{Supervivencia} = 90.7112 + 0.0426542 * T + 0.155292 * F - 0.126025 * MD$$

(5.6)

Donde, %Supervivencia es el porcentaje de supervivencia, T es la temperatura de entrada (°C), F es el flujo de alimentación (mL/Min) y MD es la concentración de maltodextrina (% p/v).

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo así ajustado explica 11.80% de la variabilidad en Supervivencia, por lo que la ecuación no es recomendada para una modelación aceptable al tener un % de R² tan bajo.

En el cuadro 5.14 se observa que el valor-P es mayor o igual que 0.05, por lo que no existe una relación estadísticamente significativa entre las variables con un nivel de confianza del 95.0%.

Cuadro 5.14 Análisis de varianza del modelo para la supervivencia de BAL-03

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo	97.265	3	32.4217	1.25	0.3108
Residuo	726.829	28	25.9582		
Total (Corr.)	824.094	31			



Capítulo 6

Conclusiones y recomendaciones



6.1 Conclusiones

- Se encontró que a mayor flujo de alimentación y a menor temperatura, se obtuvieron mayores valores de A_w , los cuales oscilaron entre 0.22 y 0.31.
- Para el análisis de color se determinó que el flujo de alimentación y la concentración de maltodextrina tienen un efecto significativo en el índice de blancura. Los polvos más cercanos al color blanco fueron los tratamientos realizados utilizando un menor flujo de alimentación y una mayor concentración de maltodextrina, con valores promedio de 84.88% IB.
- Los rendimientos de proceso oscilaron entre 30 y 57%, obteniendo los valores mayores con la temperatura más alta (160°C) y el flujo más pequeño (3 mL/min).
- Las supervivencias de *L. plantarum* obtenidas oscilaron entre 93 y 96%, observando que ninguna variable tuvo un efecto significativo. Esto nos indica la posibilidad que nuestra cepa ha desarrollado una termo resistencia al sobrevivir a temperaturas más altas que las reportadas por otros autores. Lo anterior sugiere que se podrían utilizar mayores temperaturas para probar la estabilidad del microorganismo.
- Los modelos obtenidos para actividad acuosa, índice de blancura y supervivencia presentaron valores pequeños de R-cuadrada, por lo que no nos garantiza que los modelos describan bien el proceso. Caso contrario para la eficiencia del proceso, ya que su R-cuadrada nos indica que el modelo se ajustó bien al proceso.



6.2 Recomendaciones

- Buscar y emplear otros modelos matemáticos en los cuales se obtenga un mejor ajuste al proceso estudiado, los cuales nos permitan reproducir resultados confiables sin la necesidad de realizarlos experimentalmente.
- Realizar un estudio en donde se analice la termo-resistencia de *Lactobacillus plantarum* BAL-03, para comprobar que las supervivencias que se obtuvieron son debido a un cambio en la cepa que le permite resistir a temperaturas más altas. Lo anterior mediante la realización de un diseño experimental utilizando temperaturas mayores a 160°C.



Capítulo 7

Competencias desarrolladas



7.1 Competencias desarrolladas

- Trabaja en equipo para el logro de las actividades.
- Utiliza metabuscadores para la obtención de bibliografía apropiada para la discusión de resultados.
- Utiliza y manipula el secador por aspersion de laboratorio.
- Elabora análisis estadísticos con el software StatGraphics.
- Redacta de forma clara y precisa el informe de la residencia
- Capacidad de crítica y autonomía.



Capítulo 8

Referencias bibliográficas

8.1 Referencias bibliográficas

- Alvarez, H. (2009). Dimensionamiento y Simulación de un Secado por Aspersión a Nivel Piloto. *Tesis de Maestría en Ciencias de Bioprocesos. Instituto Politécnico Nacional.*
- American Journal of Clinical Nutrition. (2001). Lactobacillus plantarum y su reducción del intestino irritable. *American Journal of Clinical Nutrition.*
- Arku, B. (2008). Enterobacter sakazakii survives spray drying. *International Journal of Dairy Technology*, 102-108.
- Bakan, J. (1978). *Microencapsulation*. Encyclopedia of Food.
- Bourdichon, F., Casaregola, S., Farrokh, C., & Frisvad, J. (2012). Food fermentations: Microorganisms with technological beneficial use. *International Journal of Food Microbiology*, 87-97.
- Caicedo, L. (2000). Las matemáticas y la Ingeniería Química, una relación sinérgica. *Ingeniería e Investigación*, 47-51.
- Caplice, E., & Fitzgerald, G. (1999). Food fermentation: role of microorganisms in food production and preservation. *Int. J. Food Microbiol.*, 131-149.
- Carr, F., & Hill, D. a. (2002). The lactic acid bacteria: A literature survey. *Crit. Rev. Microbiol.*, 281-370.
- Chao, L., & Yanping, W. (2012). Yogurt started obtained from Lactobacillus plantarum by spray drying. *Drying Technology*, 1698-1706.
- Devastotra, P. (2014). Stability of probiotic Lactobacillus paracasei during storage as affected by the drying method. *International Dairy Journal*, 1-7.
- Edelson-Mammel, S., & Buchanan, R. (2004). Thermal inactivation of Enterobacter sakazakii in rehydrated infant formula. *Journal of food protection*, 60-63.
- FAO/OMS. (2002). *Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food*. London.
- Fuller, R. (1989). Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.*, 365-378.



- Gaggia, F., & Gioia, D. (2011). The role of protective and probiotic cultures in food and feed and their impact in food safety. *Trends in Food Science & Technology*, 58-66.
- García González, J. M. (2008). La simulación de procesos en Ingeniería Química. *Investigación Científica*, 3-11.
- Garrity, G. (s.f.). *Bergey's manual of systematic bacteriology, vol. 2: The proteobacteria*. New York: Williams and Wilkins.
- Gilabert, E. (1992). *Medida del color*. Valencia: Servicio de Publicaciones de la Universidad Politécnica de Valencia.
- Giraldo, G., & Montoya, J. (2012). Determinación del índice de blancura en harina de trigo comercial. *Universidad de Antioquía*, 415-416.
- Gomez, C., & Calderón, Y. (2008). Construcción de modelo semifísicos de base fenomenológica. *Revista de Facultad de Ciencias Agropecuarias*.
- Gómez-Zavaglia, A. (2010). *Aspectos probióticos y tecnológicos de las bacterias lácticas*. Argentina: Universidad Nacional de la Plata.
- González, J. (2013). *Evaluación in vitro del potencial probiótico de bacterias ácido lácticas aisladas de una bebida fermentada autóctona de Chiapas*. México.
- Haller, D., & Colbus, H. (2001). Metabolic and functional properties of lactic acid bacteria in the gastrointestinal ecosystem. *System. Appl. Microbiol.*, 218-226.
- Hamrock, B. J., Jacobson, B. O., & Schmid, S. R. (2000). *Elementos de máquinas* (Segunda ed.). McGraw-Hill.
- Jacobsen, C. (1999). Screening of probiotic activities of forty-seven strains of *Lactobacillus* spp. by in vitro techniques and evaluation of the colonization ability of five selected strains in humans. *Applied and Environmental Microbiology*, 4946-4956.
- Joshi, V., & Thorat, B. (2011). Formulation and cost-effective drying of probiotic yeast. *Drying Technology*, 495-507.
- Kailasapathy, K. (2006). Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yogurth. *Lebensm Wiss Technol.*, 1221-1227.



Capítulo 8

- Kearney, X., & Stanton, c. (2009). Development of a spray dried probiotic yogurt containing *Lactobacillus paracasei*. *International Dairy Journal*, 684-689.
- Knorr, D. (1998). Technology aspects related to microorganism in functional foods. *Trends in Food Science & Technology*, 295-306.
- Kuehl, R. O. (2001). *Diseño de Experimentos* (2a. Edición ed.). Thomson Learning.
- Kumar, A. (2007). Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. *Trends Food Science Technology*, 240-251.
- Leeber, S. (2009). Identification of a Gene Cluster for the Biosynthesis of a Long, Galactose- Rich Exopolysaccharide in *Lactobacillus rhamnosus* GG and Functional Analysis of the Priming Glycosyltransferase. *Applied and Environmental Microbiology*, 3554-3563.
- Manojlovic, V., & Nedovic, V. (2010). Encapsulation of Probiotics for use in Food Products. *Springer*, 269-302.
- Marcus, M. (2003). *Modelamiento de Procesos Químicos*. Obtenido de Departamento de Ingeniería de Sistemas y Automática: http://www.disa.bi.ehu.es/spanish/asignaturas/15212/TEMA_3_ModeladoDeConocimiento.pdf
- Meng, X., Stanton, C., & Fitzgerald, G. (2008). Anhydrobiotics: The challenges of drying probiotic cultures. *Food Chemistry*, 1406-1416.
- Montes Ramírez, L. M. (2013). *Efecto de la microencapsulación con agentes prebióticos sobre la viabilidad de microorganismos probióticos*. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia.
- Montgomery, D. (2002). *Diseño y Análisis de Experimentos* (2a Edición ed.). Limusa.
- Parra-Huertas, R. (2010). Bacterias ácido lácticas: papel funcional en alimentos. *Revista de Ciencias Agropecuarias*, 93-105.
- Pedroza, R. (2002). Alimentos microencapsulados: particularidades de los procesos para la microencapsulación de Alimentos para larvas de especies acuícolas. *Symposium Internacional de Nutrición Agrícola*.
- Pegg, R. (1999). Encapsulación y liberación controlada en la conservación de alimentos. *Food Science of Technology*, 611-667.



Capítulo 8

- Peighambardoust, S., & Golshan, T. (2011). Application of spray drying for preservation of lactic acid starter cultures: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 215-224.
- Rahman, M. (2003). *Manual de conservación de los alimentos*. España: Acribia.
- Ranadheera, R., & Baines, S. (2010). Importance of food in probiotic efficacy. *Food Res Int.*, 1-7.
- Rivera, E. (2006). Evaluation of optimization techniques for parameter estimation: application to ethanol fermentation considering the effect of temperature. *Process Biochemistry*, 1682-1687.
- Riveros, Ferrer, & Bórquez. (2009). Spray drying of a vaginal probiotic strain of a *Lactobacillus acidophilus*. *Drying Technology*, 123-132.
- Ruelas, F. (2000). *Identificación y control de procesos químicos con múltiples redes neuronales*. México, DF: Instituto Politécnico Nacional.
- Ruiz, A. (Julio de 2010). *Hacia el escalado de procesos desde su modelo fenomenológico*. Obtenido de Universidad Nacional de Colombia: http://www.unalmed.edu.co/.../Hacia_escalado_procesos_desde_su_modelo_fenomenologico.doc
- Rustrian, I. (2012). *Microencapsulación del consorcio microbiano de la taberna utilizando secado por aspersion*. Tuxtla Gutiérrez.
- Saxelin, M. (2008). Probiotic and other functional microbes: from markets to mechanism. *Current Opinion in Biotechnology*, 76-79.
- Semyonov, D. (2004). Microencapsulation of *Lactobacillus paracasei* by spray freeze drying. *International Dairy Journal*, 737-743.
- Stack, H. (2009). Association of Beta-Glucan Endogenous Production with Increased Stress Tolerance of Intestinal *Lactobacillus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 500-507.
- Su, L., Lin, C., & Chen, M. (2007). Development of an Oriental-style dairy product coagulated by microcapsules containing probiotics and filtrates from fermented rice. *Society of Dairy Technology*, 49-55.
- Taylor, J., & Mitchell, D. (2007). *La maravilla de los probióticos*. New York: St Martin Press.
- Telang, A., & Thorat, B. (2010). Optimization of process parameters for spray drying of fermented soy milk. *Drying Technology*, 1445-1456.



Capítulo 8

- Todd, R. (1970). Microencapsulation and the flavor industry. *Flavor Industry*, 768-771.
- Villena, M., & Gallardo, V. (2009). Técnicas de microencapsulación: una propuesta para microencapsular probióticos. *ARS Pharmaceutica*, 43-50.
- Yañez, J., & Chaires, L. (1999). Aplicaciones biotecnológicas de la microencapsulación. *Avance y perspectiva vol. 21*.