

Secado por aspersión de jugo de litchi enriquecido con *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* utilizando un agente acarreador de bajo costo

De la Cruz Martínez A.¹, Borrás Enríquez A.J.², Delgado Portales R.E.¹, Loredó Becerra A.¹, Moscosa Santillán M.¹

¹Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Manuel Nava No.6, Zona Universitaria, 78210, San Luis Potosí, S.L.P., México. Tel: (+52) 444 8262440 ext. 6596. ²Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C., Camino al Arenero 1227, El Bajío, Zapopan 45019, Jalisco, México. Correo: alejandro.decruz@uaslp.mx

Deshidratación, alimento funcional, probióticos

Introducción

El litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) es miembro de la familia *Sapindaceae*, y es una de las frutas subtropicales más importantes en todo el mundo. Este fruto tiene el tamaño de una fresa, su cáscara es firme como de papel grueso de un atractivo color rojo intenso. La carne al interior tiene un color blanco perla de aspecto gelatinoso fume y es apreciada por su excelente sabor que se debe a una combinación ideal entre componentes dulces y agrios; se come en estado fresco, congelado, enlatado o seco [1].

Este fruto se ha introducido recientemente en el mercado internacional y ha registrado un continuo crecimiento de su demanda. En la actualidad los principales productores a nivel mundial son China, Israel, Australia, Tailandia, India, Vietnam, México y algunos países de África, así como de Centro y Sudamérica. Se estima que el 95 % del área cultivada se encuentra en Asia y tan solo China abarca el 70% de la producción mundial. En México se tiene registrada una superficie de 3,571 ha, en las que se producen 18,062 ton. Así mismo, son al menos 14 estados de la república donde se tienen condiciones adecuadas de precipitación, vientos y temperaturas que permiten el cultivo de este frutal [2,3].

Se reconoce a este fruto como un producto de alto valor comercial, por su sabor, textura y color únicos. Además, se sabe que tiene grandes cantidades de compuestos fenólicos, que son fuentes potenciales de antioxidantes naturales, tanto en su pulpa como en sus semillas. La pulpa de litchi también exhibe excelentes actividades antioxidantes y en su pericarpio se ha encontrado un gran contenido de antocianinas, que son las responsables de su color rojo. Este fruto también es una excelente fuente de vitamina C y se sabe contiene alrededor de 43 compuestos aromáticos volátiles [3-6].

La problemática que se tiene con este fruto es que durante su almacenamiento ocurre el pardeamiento de su pericarpio, afectando su atractivo visual ante el consumidor y la calidad del producto. Este es un problema que se atribuye a la pérdida de agua que sufre el fruto, los cambios de pH, la descomposición de antocianinas, la acción de las propias enzimas y el crecimiento microbiano. Este cambio empieza a notarse durante las primeras 12 horas posteriores a la recolección del fruto y se va acentuando hasta las 24 horas. Se estima que estos cambios de apariencia generan pérdidas del 25 al 30%. Ante esta problemática se han planteado diferentes estrategias enfocadas en disminuir las mermas del fruto durante su almacenamiento y extender su vida de anaquel. Entre las técnicas se encuentran la inmersión en soluciones ácidas, tratamiento con agua caliente, fumigación y recubrimiento con quitosano, así como el empaquetamiento en atmósferas modificadas y el almacenamiento en frío. Incluso con el uso de estos tratamientos se logran tiempos de almacenamiento de 20 a 30 días [3].

Otra alternativa para obtener un mayor aprovechamiento de la Litchi y disminuir las pérdidas del fruto, es poder procesarlo inmediatamente a su recolección para extraer su jugo y tener una bebida. Además, el jugo puede secarse para recuperar compuestos de alto valor agregado. En este sentido, se han realizado estudios de jugo de litchi enriquecido con microorganismos probióticos, para obtener una bebida funcional. Se logra así un efecto sinérgico entre los beneficios del jugo de litchi y el aporte al cuidado de la salud que dan los probióticos. Estudios recientes, proponen el secado por aspersión para la encapsulación de *Lactobacillus casei* en jugo de Litchi, empleando agentes acarreadores como maltodextrina y goma arábiga. Los resultados muestran buena sobrevivencia de los microorganismos, así como la conservación de

compuestos aromáticos del litchi [6]. Este tipo de alternativas no solo ayudarían a reducir las pérdidas, debido al procesamiento inmediato del litchi, sino que además le daría un valor agregado al fruto proponiendo un producto funcional sabor litchi, que podría ser comercializado.

Bajo esta perspectiva, el presente trabajo busca evaluar las mejores condiciones del proceso de secado por aspersión para la obtención de polvos de litchi enriquecidos con *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis*, empleando como agente acarreador leche comercial baja en grasa (0.5%). Cabe señalar que este agente encapsulante ha mostrado, en otros estudios, ser adecuado para este tipo de microorganismos y tener un bajo costo respecto a otros acarreadores.

Metodología

Material utilizado y proporción de la solución encapsulante.

Se utilizaron cultivos liofilizados probióticos del género *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* (SACCO BLC1, RAFF S.A. de C.V.). Las bacterias se encapsularon en leche comercial baja en grasa (0.5%) con un contenido de sólidos de 10%. Se empleó jugo natural de litchi, obtenido en la región de la huasteca potosina, con 18.8% de sólidos. Con base en pruebas preliminares, se propuso una solución encapsulante preparada con 70% de leche, 30% de jugo de fruta. La concentración de pasta celular fue de 6 g de probióticos por cada 100 ml de solución encapsulante.

Diseño de experimentos.

Se propuso un diseño de experimentos factorial completo 2^3 con 3 puntos centrales. El objetivo fue estudiar el efecto de la temperatura de encapsulación, el flujo de alimentación del secador por aspersión y la cantidad de agente acarreador empleado, sobre el rendimiento de las cápsulas, así como la humedad y la actividad de agua de las mismas.

Tabla 1. Valores de las variables del diseño de experimentos factorial 2^3

VARIABLES	Nivel bajo	Nivel alto	Punto central
Cantidad de agente acarreador (g)	15	25	20
Temperatura de secado (°C)	140	180	160
Flujo de alimentación del secador (ml/min)	5	10	7.5

Obtención de pasta celular.

Los microorganismos probióticos se activaron dos veces a 35°C por 24h en 20ml de caldo MRS con 0.05% de L-cisteína para promover la condición de anaerobiosis. Posteriormente se realizó un escalamiento propagando una alícuota de 1ml en un matraz de 800ml de MRS con L-cisteína que fue incubado por 24h a 35°C. La pasta celular generada a este tiempo se colectó por centrifugación a una velocidad de 4000 rpm a 4°C durante 15 min. A la pasta celular obtenida se le realizaron dos lavados, bajo las mismas condiciones de centrifugación, primero con una solución de fosfatos y por último con agua destilada.

Encapsulación mediante secado por aspersión

La solución se alimentó en un secador por aspersión (Mini Spray Dryer B-290, Büchi, Switzerland) variando las condiciones de operación de temperatura (180, 140 y 160°C), un 100% de aspiración, con una variación en el flujo de alimentación (10, 7.5 y 5 ml/min). A este proceso se le determinó el rendimiento, considerando la cantidad teórica de sólidos presentes en la solución y la cantidad de sólidos recolectados.

Análisis de viabilidad de las bacterias probióticas.

La concentración de microorganismos (UFC/g) en la solución probiótica, previo a la operación de secado, se determinó mediante la técnica de Miles y Misra. Esta consiste en sembrar por triplicado alícuotas de 20 μ L de muestras de solución, diluidas a diferentes concentraciones (desde 10^{-1} hasta 10^{-7}) en una solución amortiguadora de fosfatos. Dichas alícuotas se sembraron en cajas Petri con agar MRS enriquecido con cisteína. Las placas se colocaron dentro de un desecador de policarbonato a una presión de vacío (17 inHg) para favorecer condiciones de anaerobiosis durante un periodo de incubación de 48h a 35°C. Lo mismo se realizó para probar las cápsulas probióticas obtenidas después del secado, empleando 1 g de muestra y realizando las diluciones correspondientes.

Actividad de agua y humedad.

Humedad: La determinación del contenido de humedad de las microcápsulas se realizó a través de secado en horno a 102°C hasta alcanzar un peso constante, de acuerdo con lo establecido por la International Dairy Federation (IFD, 1993).

Actividad de Agua: Se realizó la determinación de la actividad de agua en las microcápsulas en un equipo AquaLab® 4TE Water Activity Meter, haciendo los análisis por triplicado para cada corrida de los diseños de experimentos.

Resultados y discusión

Los resultados de las determinaciones físicas se resumen en la tabla 2, donde se puede ver cada una de las combinaciones de las 3 variables evaluadas en este trabajo y sus tres puntos centrales, dando un total de 11 experimentos, a través de los cuales se evaluaron los dos valores propuestos para cada factor. Del análisis del diseño factorial se identificó que los factores como el flujo y la cantidad de agente acarreador muestran una influencia significativa sobre el rendimiento. De tal manera que una mayor cantidad de leche ayudará a tener un mayor rendimiento y por el contrario un mayor flujo de alimentación del secador promoverá un menor rendimiento del proceso de secado. En los resultados de la tabla 2 puede verse que el mayor rendimiento fue de 42.62%, correspondiendo al experimento 5 (5 ml/min, 180°C, 25 g). Esto podría explicarse debido a que una mayor presencia de sólidos dentro de la cámara de secado representa partículas asperjadas con menos contenido de humedad saliendo por la tobera y haciendo más rápido y eficiente el proceso de secado. Los valores de rendimiento fueron similares a los que en promedio se tienen al realizar secado por aspersión con la leche comercial empleada por sí sola y que se han reportado en otros trabajos.

Sobre el porcentaje de humedad y la actividad de agua no se observó efecto significativo respecto a estas mismas dos variables, pero resalta que el menor contenido de humedad fue de 6.51% dentro de las condiciones del punto central (7.5 ml/min, 160 °C y 20 g). Por otra parte, la temperatura tuvo un efecto significativo sobre la actividad de agua, de tal manera que entre mayor es la temperatura de secado menor es la actividad de agua de los polvos de litchi probióticos. El valor más bajo de actividad de agua se obtuvo en el experimento 2 (10 ml/min, 180°C, 15 g).

Sobre la sobrevivencia de las bacterias probióticas al proceso de secado, se debe considerar que esta condición pudo verse afectada desde la adición a la solución encapsulante, ya que el jugo de litchi tiene un pH ácido que no es favorable para las bacterias. Sin embargo, los resultados de viabilidad tanto de la solución encapsulante como de los polvos probióticos mostraron cifras siempre mayores a 1×10^7 UFC/ml o g, respectivamente. Este valor se considera como mínimo para considerar al polvo como probiótico. El mayor contenido de bacterias probióticas para el polvo de litchi se obtuvo en el experimento 3 (10 ml/min, 140°C, 25 g), con una concentración de 1.1×10^9 UFC/g. Las temperaturas empleadas así como las concentraciones de sólidos de leche no parecen mostrar una tendencia clara de algún efecto sobre la sobrevivencia. Esto se puede observar en la tabla 3, donde se presentan la concentración de bacterias probióticas en las soluciones encapsulantes y los polvos obtenidos después del secado por aspersión. En trabajos similares como el de Niras Kingwate *et al.* [6], donde se encapsuló *Lactobacillus casei* 01 en agentes acarreadores típicos

(maltodextrinas, goma arábica), se reportan viabilidades de los probióticos en los polvos de alrededor de 5.6×10^6 UFC/g. De hecho, este valor fue el más alto obtenido y se logró con temperaturas de secado que no superaron los 90°C . En este trabajo, se lograron valores de viabilidad más elevados de *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* en los polvos de litchi procesados, para todas las condiciones de trabajo del secador por aspersión empleadas, como puede observarse en la tabla 3.

Tabla 2. Resultados de los análisis físicos de los polvos probióticos de litchi obtenidos en el diseño de experimentos factorial 2^3 .

No. Experimento	Flujo (ml/min)	T ($^\circ\text{C}$)	Cantidad de Leche (g)	Rendimiento (%)	Humedad (%)	a_w
1	10	180	25	29.59 ± 1.47	8.19 ± 0.96	0.1547 ± 0.0047
2	10	180	15	26.26 ± 1.55	8.68 ± 1.26	0.1501 ± 0.0077
3	10	140	25	33.77 ± 1.37	8.20 ± 0.35	0.2259 ± 0.0018
4	10	140	15	21.54 ± 0.21	7.87 ± 0.33	0.3011 ± 0.0014
5	5	180	25	42.62 ± 1.70	7.65 ± 1.07	0.1947 ± 0.0044
6	5	180	15	24.4 ± 1.61	7.49 ± 0.21	0.2169 ± 0.0121
7	5	140	25	41.73 ± 1.65	10.49 ± 1.43	0.2559 ± 0.0028
8	5	140	15	34.13 ± 1.29	9.14 ± 0.45	0.2519 ± 0.0200
9	7.5	160	20	33.15 ± 1.35	7.18 ± 1.67	0.2347 ± 0.0047
10	7.5	160	20	29.95 ± 0.35	9.01 ± 2.30	0.2447 ± 0.0017
11	7.5	160	20	32.09 ± 4.71	6.51 ± 0.23	0.2236 ± 0.0052

Tabla 3. Resultados de los análisis de viabilidad de las bacterias *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* en los polvos de Litchi obtenidos en el diseño de experimentos factorial 2^3 .

No. Experimento	Flujo (ml/min)	T ($^\circ\text{C}$)	Cantidad de Leche (g)	Viabilidad Solución (UFC/ml)	Viabilidad Polvo (UFC/g)
1	10	180	25	$2.3\text{E}+09 \pm 8.8\text{E}+08$	$2.4\text{E}+08 \pm 1.5\text{E}+07$
2	10	180	15	$1.4\text{E}+09 \pm 2.8\text{E}+08$	$3.7\text{E}+08 \pm 7.5\text{E}+07$
3	10	140	25	$1.4\text{E}+10 \pm 3.8\text{E}+08$	$1.1\text{E}+09 \pm 1.4\text{E}+08$
4	10	140	15	$1.1\text{E}+09 \pm 2.2\text{E}+08$	$3.1\text{E}+08 \pm 2.1\text{E}+07$
5	5	180	25	$1.3\text{E}+09 \pm 2.6\text{E}+08$	$2.7\text{E}+07 \pm 6.0\text{E}+06$
6	5	180	15	$1.4\text{E}+09 \pm 1.4\text{E}+08$	$2.9\text{E}+08 \pm 3.4\text{E}+07$
7	5	140	25	$1.8\text{E}+09 \pm 1.7\text{E}+08$	$3.3\text{E}+08 \pm 2.8\text{E}+07$
8	5	140	15	$2.4\text{E}+09 \pm 4.4\text{E}+08$	$7.1\text{E}+07 \pm 5.8\text{E}+06$
9	7.5	160	20	$2.5\text{E}+09 \pm 1.9\text{E}+08$	$1.1\text{E}+08 \pm 9.7\text{E}+06$
10	7.5	160	20	$2.0\text{E}+09 \pm 1.8\text{E}+08$	$2.0\text{E}+08 \pm 1.5\text{E}+07$
11	7.5	160	20	$2.1\text{E}+09 \pm 2.1\text{E}+08$	$1.2\text{E}+08 \pm 7.5\text{E}+06$

Todos los resultados presentados fueron consistentes con la sobrevivencia de probióticos obtenida en otros estudios de secado por aspersión. Esto sugiere que la presencia del jugo de litchi no interfiere en el proceso de encapsulado. Además, se lograron obtener polvos que mantienen el aroma característico de la litchi y con la cantidad de bacterias probióticas suficientes para considerarse como un alimento funcional. Sin embargo, deben realizarse análisis para caracterizar y cuantificar los compuestos aromáticos contenidos en los polvos. También se debe resaltar la viabilidad de la encapsulación de microorganismos probióticos empleando un agente encapsulante de bajo costo, tal como la leche comercial baja en grasa empleada en este trabajo. La buena funcionalidad de este agente acarreador puede explicarse por su contenido de

sólidos, conformado principalmente por proteínas, carbohidratos y fibra. Reportes de la literatura indican que en efecto, un alto contenido de proteínas y carbohidratos confieren un mayor efecto protector para la viabilidad celular [7, 8].

Conclusión

Se puede concluir que es factible la producción de polvos de litchi enriquecidos con *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis*, considerando el rendimiento del proceso obtenido en el secado por aspersion, así como la cantidad de bacterias probióticas viables en los polvos producidos. Por ello, este tipo de productos son una opción para un mejor aprovechamiento de este fruto, reduciendo las pérdidas que se tienen hoy en día por la falta de procesamiento de la fruta. Sin embargo, aún se tiene que estudiar cómo se ven afectados los propios componentes del litchi que no sólo participan en la conformación de su aroma, sino que también le dan ese valor extra al tener propiedades antioxidantes.

También es importante recalcar que la leche comercial baja en grasa logró proteger a la bacteria probiótica adicionada al jugo de litchi, siendo un buen agente encapsulante y de bajo costo. El encapsulado garantiza el atrapamiento de las bacterias en una matriz sólida, protegiéndolas de las altas temperaturas que se tuvieron en la cámara de secado. Por último, cabe señalar que este producto tiene potencial para ser utilizado en la elaboración de alimentos funcionales que provean no solo del beneficio a la salud por los microorganismos probióticos, sino del sabor y aroma característicos de este fruto.

Referencias

- [1] ASERCA/CIESTAAM. (1996). Mercado mundial de Litchi mexicano. 1-224
- [2] Gelacio Alejo-Santiago, Gregorio Luna-Esquivel, Eduardo Salcedo-Pérez, Rufo Sánchez-Hernández, Circe A. Aburto-González. (2015). Dinámica de crecimiento y extracción nutrimental del fruto de litchi (*Litchi chinensis* sonn) cv. Brewster. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*. **2**(4):1-12.
- [3] Dongwu Liang, Fengying Lin, Gongming Yang, Xiju Yue, Quankai Zhang, Zhaoqi Zhang, Houbin Chen. (2015). Advantages of immersion freezing for quality preservation of litchi fruit during frozen storage. *LWT - Food Science and Technology*, **60**(2):948-956.
- [4] Xuewu Duan, Yueming Jiang, Xinguo Su, Zhaoqi Zhang, John Shi. (2007). Antioxidant properties of anthocyanins extracted from Litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit pericarp tissues in relation to their role in the pericarp browning. *Food Chemistry*, **101**(4):1365-1371.
- [5] Suijian Qi, Hua Huang, Jiayi Huang, Qianyi Wang, Qingyi Wei. (2015). Lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) seed water extract as potential antioxidant and anti-obese natural additive in meat products. *Food Control*.**50**:195-201.
- [6] Niras Kingwatee, Arunee Apichartsrangkoon, Pittaya Chaikham, Srivilai Worametrachanon, Jeeranat Techarung, Tanachai Pankasemsuk. (2015). Spray Drying *Lactobacillus casei* 01 in lychee juice varied carrier materials. *LWT - Food Science and Technology*. **62** (1):847-853.
- [7] Corcoran B.M., Ross R.P., Fitzgerald G.F. and Stanton C. (2004). Comparative survival of probiotic lactobacilli spray-dried in the presence of prebiotic substances. *Journal of applied Microbiology*. **96**(5): 1024-1039.
- [8] Fu N. y Chen X. D. (2011). Towards a maximal cell survival in convective thermal drying processes. *Food Research International*. **44**(5):1127-1149.