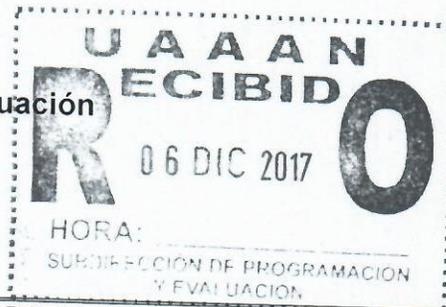




Dirección de Investigación
Subdirección de Programación y Evaluación



Proyecto de Investigación 2018

Form fields: Unidad: Saltillo, División: Ciencia Animal, Departamento: DCTA, Tema estratégico (ANA/PEP): Leche y derivados (PEP), Línea de investigación: Microbiología de Alimentos, Título del proyecto: Gel de mucilago de chía (Salvia Hispánica L.) en la encapsulación de bacterias ácido lácticas (BAL), Presupuesto solicitado (Máximo \$75,000) \$40,000.00, El proyecto es: Nuevo x Continuación, Tipo de investigación: Básica Aplicada x Tecnológica, Vinculación: Si x No, Fondos concurrentes: e-mail del responsable scro7@hotmail.com, Cooperante(s): Dra. Ruth Elizabeth Belmares Cerda, Entidad (es): Coahuila, Municipio (s): Saltillo, Localidades: UAAAN, UA de C, A realizar durante el(los) año(s): 2018

Table with 5 columns: Participantes, Adscripción (Clave Depto.), Expediente No., Firma. Rows include Responsable (Mc. Sarahí del Carmen Rangel Ortega), Colaborador (Dra. Dolores Gabriela Martínez Vázquez, Dr. Mario Alberto Cruz Hernández).

Table with 5 columns: Tesista, Grado por obtener, Matrícula, Firma. Row includes Tesista (C. Jairo Pacheco librado), Grado por obtener (licenciatura), Matrícula (41147042).

Signature and authorization section. Includes 'Vo. Bo.' and 'Autoriza' fields with handwritten signatures. Name fields: Dra. Dolores Gabriela Martínez Vázquez (Jefe de Departamento) and Dr. Armando Robledo Olivo (Subdirector de Programación y Evaluación).

- Cada Jefe de Departamento deberá dejar copia para su archivo

1.-Título del proyecto

Presupuesto solicitado:

Gel de mucilago de chia (*Salvia Hispánica L*) en la encapsulación de bacterias ácido lácticas (BAL).

\$40,000.00

2.- Introducción

Las BAL producen metabolitos con actividad antimicrobiana frente a diversos microorganismos patógenos, tales como *S. aureus*, *Salmonella*, *E. coli*, además tienen capacidad de adherirse al epitelio intestinal por lo que algunas de ellas tienen potencial para ser consideradas probióticas. ( Nam et al., 2002)  
 La encapsulación de las BAL con potencial probiótico permite proteger a las células vivas frente a un entorno adverso y mejorar su viabilidad conservando su actividad metabólica (Picot y Lacroix., 2004). Actualmente ha incrementado el uso del gel de mucilago de chia en la industria de alimentos debido a sus propiedades funcionales (Mudgil y barak, 2013), sin embargo poco se conoce de su uso como material de encapsulación.

Objetivos

**General**

Evaluar el potencial del gel de mucilago de chia (*Salvia Hispánica L.*) como material encapsulante para bacterias ácido lácticas aisladas de queso artesanal de cabra.

**Específicos**

- Liofilizar BAL y determinar su viabilidad.
- Determinar condiciones de hidratación y esterilización del mucilago de chia.
- Probar diferentes mezclas de BAL y mucilago de chia para su encapsulación
- Probar distintos métodos de encapsulación.
- Determinar viabilidad de BAL después de la encapsulación.

Hipótesis

El gel de mucilago de chia (*Salvia Hispánica L*) es un material conveniente para la encapsulación de bacterias ácido lácticas.

3.-Revisión de Literatura

Las bacterias ácido lácticas son microorganismos no patógenos, que cuando se ingieren en cantidades adecuadas ejercen una influencia positiva en la salud de quien las consume. Una gran variedad microorganismos típicamente bacterias ácido lácticas grado alimenticio, han sido evaluadas por su potencial probiótico y han sido añadidas a varios productos alimentarios para producir un efecto positivo en la salud de quien los consume. A estos alimentos se les consideran alimentos funcionales (Zago et al., 2011).

En un estudio realizado por Narváez et al., (2017) en la universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en el departamento de alimentos, se aislaron distintas cepas de BAL, destacando dos de ellas codificadas como QJ2 y QR2. Estas cepas además de presentar características como alta capacidad de fermentación, producción de aromas lácticos agradables, tienen la particularidad de inhibir en placa Petri a *S. Aureus*, *E. coli* y *Salmonella*, por tal razón, son bacterias que pueden considerarse con potencial probiótico para formular un alimento funcional.

En alimentos funcionales probióticos los microorganismos se ven afectados por factores medioambientales y

tecnológicos que pueden reducir su viabilidad, estabilidad y capacidad funcional (Rodríguez et al., 2016). La tecnología de encapsulación al proteger las sustancias activas mediante un material de recubrimiento como barrera física puede favorecer la supervivencia de los microorganismos (Rodríguez et al., 2012). La encapsulación se define como una técnica por la cual gotas líquidas, partículas sólidas o gaseosas, son cubiertas con una película polimérica porosa conteniendo una sustancia activa, permitiendo mantener su estabilidad y viabilidad (Parra y Medina., 2012).

Para la selección de un adecuado material de encapsulación se deberán considerar aspectos como grado alimenticio, costos y propiedades físico-químicas como la solubilidad, peso molecular, transición vítrea / fusión, cristalinidad, difusividad, formación de películas y propiedades emulsionantes (Gharsallaoui et al., 2007) biodegradabilidad y capacidad para formar una barrera entre el interior de la cápsula y sus alrededores. Se deberán considerar adicionalmente, las propiedades del material al cual se incorporaran los encapsulados (Stoll et al., 2016). Existen numerosas técnicas como la atomización, coacervación compleja, polimerización interfacial e inclusión molecular, liofilización, emulsificación, liposomas y gelificación iónica, que son empleadas para la encapsulación de microorganismos probióticos (Xu et al., 2016). Algunas de las técnicas de encapsulación más empleadas en el área de alimentos se muestran en la figura 1.

		Método de encapsulación					
		Lecho fluidizado	Coacervación	Secado por atomización	Enfriamiento por atomización	Disco giratorio	Fluidización en lecho
Naturaleza de los ingredientes	Hidrofílico						
	Lipofílico						
	Amfifílicas						
	Sólido						
Líquido	> 100 µm						
	< 100 µm			no disponible			no disponible
Costo		medio		bajo	muy bajo	medio	
Capacidad de producción	Por lotes	1 T	0.5 T				
	Continuo			2 T/h	5 T/h	1 T/h	0.5 T/h
Mecanismo de liberación controlada	Térmico						
	Tiempo						
	Mecánico						
	Digestivo						

Laborioso   
  No viable

Figura 1.-Algunas técnicas de encapsulación, características y limitantes (Tomada de Guevara y Jiménez., 2008).

Los materiales de recubrimiento más empleados en la encapsulación de bioactivos son los lípidos, polisacáridos (almidón y sus derivados- amilosa, amilopectina, dextrinas maltodextrinas, celulosa y derivados), exudados y extractos de plantas (goma arábiga, goma tragacanto, goma mesquita, entre otras) carragenatos, alginatos, adicionalmente proteínas como suero lácteo y proteína aislada de soya (Da Silva et al., 2015). En términos generales, los polisacáridos presentan una alta facilidad para formar macropartículas esféricas durante el secado, por lo que son ampliamente usados (Burgain et al., 2011).

La chía (*Salvia Hispánica L*) es una planta nativa del sureste de México. Las semillas de chía y sus subproductos se han descrito con altos recursos en fibra dietética (18-30 %). La fibra dietética de la chía es un componente importante para la salud, además también es importante desde el punto de vista de la salud ya que tiene propiedades de retención de agua, formación de geles, ligador de grasa así como propiedades gelatinizantes y texturizantes (Brownlee 2014). Lo que permite su incorporación en alimentos. Las semillas de chía son un recurso vegetal que posee compuestos con propiedades nutricionales y funcionales como fibra, proteínas, ácidos grasos polinsaturados hidrocoloides y una variedad de bioactivos responsables de promover la salud y prevenir enfermedades (Costantini et al., 2014). Por lo anterior, la chía podría ser un excelente ingrediente para ser considerado en la formulación de alimentos funcionales así como en la encapsulación de bacterias ácido lácticas.

#### 4.- Procedimiento Experimental

### BAL y condiciones de cultivo

Se trabajara con dos cepas de BAL obtenidas en el estudio de Narváez et al., (2017). La activación de las BAL se realizara en caldo Man, Rogosa y Sharpe (MRS BROTH) y se determinara el recuento inicial de células, según lo establece la metodología reportada por Serna-Cock et al. (2012).

### Materiales de encapsulación

Se obtendrá mucilago de chíá y se realizaran pruebas de resistencia a la esterilidad (Miranda et al., 2010), posteriormente se probaran materiales de encapsulación adicionales (caseinato de sodio, alginato de calcio, etc.) como lo establece Heidebach et al. (2010).

### Proceso de Encapsulación

Se utilizara una relación de 1:4 para BAL –material de encapsulación, respectivamente. La mezcla se llevara a proceso de liofilización (congelación -20°C, presión de vacío 0,120 mbar y temperatura en el condensador -50°C) según Serna-Cock et al. (2012).

### Recuento de bacterias

Las capsulas formadas serán diluidas (1:10, v/v) y tratadas bajo las condiciones que establece Heidebach et al. (2010). El conteo de células viables se realizó en placa, (agar MRS, 48 h, 37°C) de acuerdo a la metodología de Doherty et al. (2010).

### Viabilidad de las BAL

Para determinar la viabilidad de las BAL después de la encapsulación, se tomara en cuenta la metodología citada por Doherty et al. (2010). Tomando en cuenta la ecuación siguiente:

$$\%viabilidad = (100 * N / N_0)$$

Donde: N = número de células viables encapsuladas en UFC g<sup>-1</sup>; N<sub>0</sub> = número de células viables antes de encapsulación en UFC g<sup>-1</sup>.

### Cronograma de Actividades para el 2018.

Actividad por realizar	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
BAL y condiciones de cultivo	x	x										
Materiales de encapsulación		x	x									
Proceso de Encapsulación			x	x	x	x	x					
Recuento de bacterias							x	x				
Viabilidad de las BAL									x			
Escribir resumen para congreso										x		
Presentación de ponencia en congreso											x	
Escritura de tesis y revisiones		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
Presentación de tesis												x

Cronograma de distribución de presupuesto para el 2018.

Actividad por realizar	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Compra de reactivos y material de laboratorio	x	x										
Pago por maquilas	x	x				x	x	x				
Gastos de presentación en congreso								x	x			
Gastos de titulación										x	x	
											x	x

Duración total del proyecto

Año de Inicio	2018	Año estimado de conclusión	2018
---------------	------	----------------------------	------

5.-Productos Esperados

- Tesis nivel licenciatura
- Ponencia en congreso internacional

6.-Literatura Citada

Brownlee, I. 2014. The impact of dietary fibre intake on the physiology and health of the stomach and upper gastrointestinal tract. *Bioactive Carbohydrate and Dietary Fibre* 4(2):155-169.

Burgain J, Gaiani C, Linder M, Scher J. 2011. Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. *Journal of Food Engineering*; 104:467-483.

Costantini L., Luksic L., Molinari R., Kreft L., Bonafaccia G., Manzi L., and Meredini N. 2014. Development of gluten-free bread using tartary buckwheat and chia for rich in flavonoids and omega-3 fatty acids as ingredients. *Food chemistry*, 165:232-240.

Da Silva TM, Rodrigues LZ, Codevilla CF, da Silva CD, de Menezes CR. 2016. Coacervação complexa: uma técnica para a encapsulação de probióticos. *Ciencia & Natura*; 37:49-55

Doherty SB, Wang L, Ross RP, Stanton C, Fitzgerald GF, Brodtkorb A. 2010. Use of viability staining in combination with flow cytometry for rapid viability assessment of *Lactobacillus rhamnosus* GG in complex protein matrices. *J Microbiol Meth. Sep*; 82 (3): 301-310.

Gharsallaoui A, Roudaut G, Chambin O, Voilley A, Saurel R. 2007. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Research International*; 40:1107-1121

Guevara-Bretón N. A., Jiménez-Munguía T. 2008. Encapsulación: Técnicas y aplicaciones en la industria alimentaria. *Temas selectos de ingeniería de alimentos* 2:36-49.

Heidebach T, Först P, Kulozik U. 2010. Influence of casein-based microencapsulation on freeze-drying and storage of probiotic cells. *J Food Eng. Jun*; 98 (3): 309-316.

Miranda M, Vega-Gálvez A, García P, Di Scala K, Shi J, Xue S, et al. 2010. Effect of temperature on structural properties of Aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) gel and Weibull distribution for modelling drying process. *Food Bioprod Process. Jun-Sep*; 88 (2-3):138-144.

Mudgil, D and Barak, S. 2013. Composition, properties and health benefits of indigestible carbohydrate polymers as dietary fiber: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 61:1-6

Nam H, Ha M, Bae O, Lee Y. Effect of *Weissella confusa* Strain PL9001 on the adherence and growth of *Helicobacter pylori*. *Appl Environ Microb.* 2002 Sep; 68 (9): 4642-4645.

Narváez Guillén Blanca Liliana, Cruz Hernández Mario A., Hernández Centeno Francisco, Flores Verastegui Mildred Inna, Martínez Vázquez Dolores Gabriela, Rangel Ortega Sarahí del C. 2017. Selección de bacterias ácido lácticas del queso de cabra artesanal de Coahuila para su uso como cultivos iniciadores. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes. sep-dic*, 72:45-52.

- Parra-Huertas Ricardo A., Medina-Vargas Oscar J-2012. Sobrevivencia y encapsulación de bacterias y su efecto en las propiedades sensoriales, fisicoquímicas y microbiológicas del yogurt. *Vitae*, ene-abril, 19(1):90-92.
- Picot A, Lacroix C. Encapsulation of bifidobacteria in whey protein-based microcapsules and survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. *Int Dairy J*. 2004 Jun; 14 (6): 505-515.
- Rodríguez YA, Rojas AF, Rodríguez-Barona S. 2016. Encapsulación de probióticos para aplicaciones alimenticias. *Revista Biosalud*; 15(2): 106-115.
- Rodríguez-Barona Sneyder, MONTES Luz M., Ramírez Diógenes De J.2012. Microencapsulación de probióticos mediante secado por aspersión en presencia de prebióticos. *Vitae*, ene-abril. 19(1):186-188.
- Serna-Cock, Liliana; Vallejo-Castillo, Vladimir; Garcia-Gonzalez, Estefanía.2012. Gel de Aloe vera (*Aloe barbadensis Miller*) en la encapsulación de una bacteria ácido láctica. *Vitae*, ene-abril. 19(1):168-170.
- Stoll L, Costa TM, Jablonski A, Flôres S, de Oliveira Rios A. 2015. Microencapsulation of anthocyanins with different wall materials and its application in active biodegradable films. *Food and Bioprocess Technology*; 8:1-10.
- Xu M, Gagné-Bourque F, Dumont M-J, Jabaji S. 2016. Encapsulation of *Lactobacillus casei* ATCC 393 cells and evaluation of their survival after freeze-drying, storage and under gastrointestinal conditions. *Journal of Food Engineering*; 168:52–59.
- Zago Miriam, Fornasari Maria Emanuela, Carminati Domenico, Burns Patricia, Suarez Viviana, Vinderola Gabriel, Reinheimer Jorge and Giraffa Giorgio. 2011. Characterization and probiotic potential of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from cheeses. *Food Microbiology*, 28:1033-1040.