

## RESISTENCIA AL TRACTO ORO-GASTROINTESTINAL DE *Bifidobacterium breve* MICROENCAPSULADO SUPLEMENTADO EN UN SORBETE NARANJA-ZANAHORIA

### RESISTANCE TO THE GOLD-GASTROINTESTINAL TRACT OF *Bifidobacterium breve* MICROENCAPSULATED SUPPLEMENTED IN AN ORANGE-CARROT SORBET

Jaime Hinojoza-Garibay<sup>1\*</sup>; Nuria Elizabeth Rocha-Guzmán<sup>1</sup>; Luz Araceli Ochoa-Martínez<sup>1</sup>; Olga Miriam Rutiaga-Quiñones<sup>1</sup>; José Alberto Gallegos-Infante<sup>1</sup>; Silvia Marina González-Herrera<sup>1</sup>

Tecnológico Nacional de México/ Instituto Tecnológico de Durango, Departamento de Ingenierías Química y Bioquímica, Durango, Dgo. \*Autor responsable: [11040756@itdurango.edu.mx](mailto:11040756@itdurango.edu.mx)

Recibido: 3 enero2021, aceptado 15 marzo 2021

Artículo científico

#### RESUMEN

En los últimos años se ha tratado de incorporar microorganismos probióticos a productos procesados de origen vegetal. Los sorbetes son matrices aptas para la incorporación de probióticos debido a sus propiedades fisicoquímicas. Para proteger a los probióticos a su paso por el tracto gastrointestinal se ha recurrido a técnicas de microencapsulación. Se han utilizado sustratos prebióticos como encapsulantes para obtener microcápsulas simbióticas. Las agavinas son prebióticos que han sido utilizados como encapsulantes de probióticos a través del proceso de secado por aspersión. Con base en estos antecedentes, se realizó esta investigación con el objetivo de conocer la resistencia oro-gastrointestinal de microcápsulas simbióticas de agavinas y *Bifidobacterium breve* adicionadas a un sorbete naranja-zanahoria. Se preparó un sorbete vegetal a

una relación 70% jugo de naranja y 30% zanahoria, al cual se le añadió 7% de microcápsulas. Para simular el proceso oro-gastrointestinal se emplearon soluciones electrolíticas intestinales, para imitar el efecto de la saliva se utilizó una solución lisozima. El ambiente gástrico se reprodujo a través de la adición de HCl y NaHCO<sub>3</sub>. Para simular el estrés intestinal se utilizaron sales biliares y pancreatina, para simular el proceso de absorción intestinal se realizó una dilución de la muestra con solución electrolítica. Los resultados mostraron que una vez finalizado el proceso de digestión *in vitro* del sorbete, se mantuvieron valores de viabilidad de 5.26 log UFC/g, brindándole al producto el atributo de alimento potencialmente funcional.

**Palabras clave:** Alimentos funcionales, Probióticos, Prebióticos, Simbióticos, Sorbete.

#### ABSTRACT

In recent years, attempts have been made to incorporate probiotic microorganisms into processed vegetable products. Sorbets are suitable matrices for the incorporation of probiotics due to their ideal physicochemical properties. Microencapsulation techniques have been used to protect probiotics as they pass through the gastrointestinal tract. Prebiotic substrates are used as encapsulants in order to obtain symbiotic microcapsules, agavins are prebiotics used as probiotics' encapsulants through the spray drying process. Based on these antecedents, this research was carried out with the purpose of knowing the gastrointestinal resistance of symbiotic microcapsules made from agavins and *Bifidobacterium breve* added to an orange-carrot

sorbet. A vegetable sorbet was prepared at a ratio of 70% orange juice and 30% carrot to which 7% microcapsules were added. Intestinal electrolyte solutions were used to simulate the gastrointestinal process, and a lysozyme solution was used to mimic the effect of saliva. The gastric environment was reproduced through the addition of HCl and NaHCO<sub>3</sub>. To simulate intestinal stress, bile salts and pancreatin were used, to simulate the intestinal absorption process a dilution of the sample with electrolyte solution was carried out. The results showed that once the *in vitro* digestion process of the sorbet was completed, viability values of 5.26 log CFU / g were maintained, giving the product the attribute of potentially functional food.

**Keywords:** *Functional foods, Probiotics, Prebiotics, Simbiotics, Sorbet.*

## INTRODUCCIÓN

Los alimentos funcionales se definen como aquellos alimentos que además de realizar su función principal de brindar los respectivos nutrientes al organismo, contienen en su formulación uno o varios compuestos bioactivos que confieren beneficios a una o varias funciones del organismo, dichos beneficios se encuentran comprobados y validados mediante investigación científica (Rajasekaran, 2017). Hay varias formas de clasificar los alimentos funcionales. Una forma es según los compuestos bioactivos que estos contienen, los cuales pueden ser probióticos, fibra, fitoquímicos, vitaminas, minerales, hierbas, omega-3, péptidos-proteínas, etc.

Los alimentos funcionales probióticos han ejercido efectos positivos en la salud general, estos se pueden clasificar en dos grupos en productos probióticos lácteos y productos probióticos no lácteos. Los yogurts, las leches fermentadas son los principales vehículos de transporte de bacterias probióticas. Sin embargo, debido a la demanda por alternativas no lácteas de origen vegetariano se ha buscado incorporar las cepas probióticas a productos tales como jugos, botanas, cereales, golosinas y chocolates, así como helados y sorbetes (Komatsu et al., 2008). Durante los últimos 20 años, los productores de alimentos han buscado la forma de incorporar ingredientes funcionales a las formulaciones tradicionales de helados y sorbetes, no solo para proporcionar funcionalidades tecnológicas, sino también para elevar los niveles

nutricionales del producto y/o brindar un beneficio a la salud. Los helados y sorbetes pueden utilizarse como vehículos para la administración de probióticos y prebióticos, siempre y cuando el proceso de congelación no cause daños a los compuestos bioactivos. Es por ello que se tienen que tener ciertas consideraciones al momento de incorporar estos ingredientes al proceso de elaboración de helados y sorbetes (Di Criscio et al., 2010). La microencapsulación mediante secado por aspersion de cepas probióticas tiene efectos positivos en la supervivencia bacteriana, tanto en el proceso de elaboración como su paso hasta el sistema gastrointestinal donde son liberadas (Homayouni et al., 2012). Dentro de los sustratos prebióticos utilizados para la microencapsulación de probióticos tenemos a las agavinas, las cuales se definen como neofructanos ramificados provenientes de la planta del agave que contienen tanto enlaces  $\beta$ -(2-1) como  $\beta$ -(2-6) (Mancilla-Margalli et al., 2006). La aplicación de agavinas como material de pared para la encapsulación de *Lactobacillus rhamnosus* GG, ha demostrado altas tasas de supervivencia durante el almacenamiento a  $-20^{\circ}\text{C}$  por 14 días, presentando conteos de células de  $7.7 \log \text{UFC/mL}$ , así como altos niveles supervivencia en condiciones gastrointestinales *in vitro* cercanos al 73.23% (Alvarado-Reveles et al., 2018). Se realizó esta investigación con el objetivo de conocer la resistencia al tracto oro-gastrointestinal de microcápsulas simbióticas de agavinas y *Bifidobacterium breve* adicionadas a un sorbete naranja-zanahoria.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Preparación del Sorbete

Para el desarrollo de la formulación del sorbete naranja-zanahoria se siguió el proceso de elaboración planteado por Hipólito et al., 2016, se empleó 70% de jugo de naranja, preparado a partir de concentrado congelado de Naranja (*Citrus sinensis*) con 65°Brix (CITROFRUT) y 30% de zanahoria (*Daucus carota*). Las microcápsulas

simbióticas de *Bifidobacterium breve* y agavinas se agregaron a la mezcla de sorbete a una proporción del 7%, dichas microcápsulas se obtuvieron a través del proceso de secado por aspersion, utilizando una solución de agavinas al 15% con 7 g de biomasa a condiciones de operación de 8 mL/min a una temperatura de entrada de  $140^{\circ}\text{C}$ .

### Resistencia al tracto oro-gastrointestinal *in vitro*

Se llevó a cabo una simulación oro-gastrointestinal de 2 g de sorbete naranja-zanahoria adicionado con microcápsulas de *Bifidobacterim breve*, siguiendo la metodología planteada por Bove et al., (2012). Para simular el proceso oro gastrointestinal se emplearon soluciones electrolíticas intestinales incubadas a 37°C con agitación. Para imitar el efecto de la saliva se utilizó una solución con lisozima. El ambiente gástrico se reprodujo a través de adiciones sucesivas de HCl 0.1M o NaHCO<sub>3</sub> según fue necesario para tener los valores de pH correspondientes. Para

simular el estrés intestinal se utilizaron soluciones de sales biliares y pancreatina, posteriormente para simular el proceso de absorción que realiza en el intestino delgado, se reprodujo mediante una dilución de las muestras con solución electrolítica. En cada etapa del proceso de digestión, se extrajo una alícuota de 100 µL para realizar determinaciones de cuenta viable por duplicado en placas de agar MRS adicionadas con 0.05% de cisteína. Las placas se llevaron a incubar durante 48 horas a 37°C con una concentración del 10% de CO<sub>2</sub>.

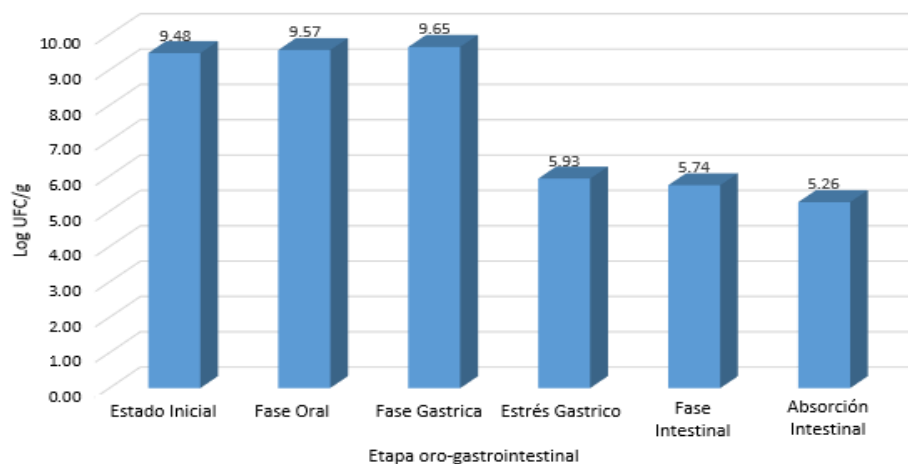
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Antes de iniciar el proceso de digestión oro-gastrointestinal del sorbete, se puede observar que este presenta una viabilidad de 9.48 log UFC/g de *Bifidobacterium breve*. Los resultados de las determinaciones de cuenta viable de cada una de las etapas del proceso oro-gastrointestinal muestran que la viabilidad de *Bifidobacterium breve* no se ve reducida en las primeras etapas del ensayo, sin embargo, a partir de la etapa de estrés gástrico se presenta una reducción en la viabilidad de aproximadamente 3.72 log UFC/g, durante las etapas intestinales se observa que al final de la etapa de absorción se cuenta con un valor de viabilidad final de 5.26 log UFC/g.

Los resultados de viabilidad obtenidos al término de del proceso de digestión oro-gastrointestinal son superiores a los obtenidos por Urbano et al., 2017, quienes observaron una reducción de 4 log UFC/g en

un sorbete de jussara adicionado con *Lactobacillus acidophilus* en estado libre al término del ensayo digestivo. Por otra parte, Ranadheera et al., 2012 obtuvieron una reducción del 100% en su viabilidad al final del proceso digestivo de un helado de leche de cabra adicionado con *Bifidobacterium animalis* en estado libre.

De acuerdo con lo planteado por Homayouni et al., 2012, el proceso de microencapsulación tiene efectos positivos en la supervivencia bacteriana, tanto en el proceso de elaboración como su paso hasta el sistema gastrointestinal. Esto provoca que se tenga una menor reducción en la viabilidad de las bacterias probióticas encapsuladas, al ser sometidas a las condiciones adversas del ensayo de digestión oro-gastrointestinal a comparación de las bacterias probióticas en estado libre sometidas al mismo ensayo.



**Figura 1.** Determinación de viabilidad del sorbete en las distintas etapas del ensayo oro-gastrointestinal.

## CONCLUSIONES

Antes de iniciar el proceso de digestión oro-gastrointestinal del sorbete, se puede observar que este presenta una viabilidad de 9.48 log UFC/g de *Bifidobacterium breve*. Los resultados de las determinaciones de cuenta viable de cada una de las etapas del proceso oro-gastrointestinal muestran que la viabilidad de *Bifidobacterium breve* no se ve reducida en las primeras etapas del ensayo, sin embargo, a partir de la etapa de estrés gástrico se presenta una reducción en la viabilidad de

aproximadamente 3.72 log UFC/g, durante las etapas intestinales se observa que al final de la etapa de absorción se cuenta con un valor de viabilidad final de 5.26 log UFC/g. Al comparar dichos resultados con los obtenidos por otros autores que evaluaron productos similares, podemos llegar a la conclusión de que el proceso de microencapsulación permite mantener una mayor viabilidad de los microorganismos probióticos que al agregarlos en estado libre a la matriz alimentaria.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvarado-Reveles, O., Fernández-Michel, S., Jiménez-Flores, R., Cueto-Wong, C., Vázquez-Moreno, L., & Montfort, G. R.-C. (2018). Survival and Goat Milk Acidifying Activity of *Lactobacillus rhamnosus* GG Encapsulated with Agave Fructans in a Buttermilk Protein Matrix. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 11(4), 1340–1347. <https://doi.org/10.1007/s12602-018-9475-y>
- Bove, P., Gallone, A., Russo, P., Capozzi, V., Albenzio, M., Spano, G., & Fiocco, D. (2012). Probiotic features of *Lactobacillus plantarum* mutant strains. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 96(2), 431–441. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4031-2>
- Di Criscio, T., Fratianni, A., Mignogna, R., Cinquanta, L., Coppola, R., Sorrentino, E., & Panfilii, G. (2010). Production of functional probiotic, prebiotic, and synbiotic ice creams. *Journal of Dairy Science*, 93(10), 4555–4564. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3355>
- Homayouni, Aziz, Azizi, Aslan, Javadi, Mina, Mahdipour, Solmaz, Ejtahed, H. (2012). Factors influencing Probiotic Survival in Ice Cream: A Review. In *Internationa Journal of Dairy Science* (pp. 1–10). Academic Journal
- Komatsu, T. R., Carolina, F., Buriti, A., Marta, S., & Saad, I. (2008). Inovação, persistência e criatividade superando barreiras no desenvolvimento de alimentos probióticos. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Science*, 44, 329–347.
- Mancilla-Margalli, N. A., & Lopez, M. G. (2006). Water-soluble carbohydrates and fructan structure patterns from Agave and *Dasyliirion* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(20), 7832–7839. <https://doi.org/10.1021/jf060354v>
- Rajasekaran, A. (2017). Nutraceuticals. *Comprehensive Medicinal Chemistry III*, 1–8, 107–134. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.12287-5>
- Ranadheera, C. S., Evans, C. A., Adams, M. C., & Baines, S. K. (2012). In vitro analysis of gastrointestinal tolerance and intestinal cell adhesion of probiotics in goat's milk ice cream and yogurt. *Food Research International*, 49(2), 619–625. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.09.007>
- Urbano, J. F., da Silva, M. P., Mazzocato, M. C., Tulini, F. L., & Favaro-Trindade, C. S. (2017). Probiotic and Synbiotic Sorbets Produced with Jussara (*Euterpe edulis*) Pulp: Evaluation Throughout the Storage Period and Effect of the Matrix on Probiotics Exposed to Simulated Gastrointestinal Fluids. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 11(1), 264–272. <https://doi.org/10.1007/s12602-017-9346-y>
- Xavier dos Santos, D., Casazza, A. A., Aliakbarian, B., Bedani, R., Saad, S. M. I., & Perego, P. (2019). Improved probiotic survival to in vitro gastrointestinal stress in a mousse containing *Lactobacillus acidophilus* La-5

microencapsulated with inulin by spray drying.  
*Lwt*, 99, 404–410.  
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.10.010>