

Estrategias De Microencapsulación De Levaduras Empleadas En Secadores De Lecho Fluidizado

Valentina Haya-Mejia¹, Andrés Ceballos-Bermudez², Nelson Caicedo-Ortega³

Departamento De Ingeniería Bioquímica, Universidad Icesi, Valle del Cauca, Colombia

RESUMEN

Los alimentos formulados con levaduras como ingredientes probióticos constituyen una alternativa para complementar las necesidades nutricionales de diferentes animales. No obstante, el procesamiento de alimentos a menudo significa que, durante la fabricación del pellet, estos microorganismos se someten a tensiones físicas como altas presiones y temperaturas afectando su porcentaje de supervivencia por la agresividad de dicho tratamiento. Como solución a esto, se ha propuesto la microencapsulación de levaduras con técnicas como el recubrimiento en secadores de lecho fluidizado. Sin embargo, la información sobre las estrategias de uso de esta técnica para realizar la microencapsulación de estos microorganismos se encuentra dispersa. Por esta razón, en este trabajo se realizó una evaluación sistemática de literatura y un metaanálisis a partir de 31 estudios publicados sobre esta temática; con el fin de determinar, a partir de matrices DOFA, las implicaciones técnicas de implementar los diferentes métodos de recubrimiento en lecho fluidizado y al mismo tiempo mediante un análisis estadístico en RStudio evaluar el efecto de los materiales encapsulantes, utilizados en este proceso, sobre la estabilidad térmica de la levadura. Estos análisis permitieron identificar que el método de recubrimiento por pulverización inferior, gracias a la partición cilíndrica y la ubicación de la boquilla, permite un patrón de fluidización controlado lo que ayuda a la reducción de las imperfecciones en el recubrimiento las cuales pueden afectar la estabilidad de la levadura encapsulada. Además, si la levadura es recubierta con materiales encapsulantes de tipo proteico y carbohidratos puede mantener altos porcentajes de viabilidad después del proceso de revestimiento a altas temperaturas logrando una estabilidad térmica.

INTRODUCCIÓN

Las levaduras son un grupo heterogéneo de hongos eucariotas que por sus diversas capacidades ha despertado interés en las industrias para lograr su implementación en diferentes procesos. En particular, estas han demostrado un gran potencial como ingredientes activos en las dietas de bovinos, siendo usadas como microorganismos probióticos en formulaciones de alimento animal [1]. Sin embargo, llevar a cabo el procesamiento de este tipo de alimentos a menudo significa que, durante la fabricación del pellet, los microorganismos son

sometidos a diferentes tensiones físicas como altas presiones y temperaturas afectando su porcentaje de supervivencia por la agresividad de dicho tratamiento [40].

Como resultado, algunos países de Latinoamérica y Europa han encontrado la microencapsulación como alternativa para solucionar este problema [3]. La microencapsulación es un método mediante el cual pequeñas partículas, gotas de líquido o gases se mezclan con un material de cobertura para dar lugar a microcápsulas o micropartículas. Este material protege a los microorganismos, como las levaduras, de

altas temperaturas y presiones cuando se lleva a cabo procesos como la peletización, permitiendo mantener su estabilidad y viabilidad [41].

Algunos estudios han despertado el interés por la técnica de revestimiento en secadores de lecho fluidizado como mecanismo de microencapsulación. Entre las razones más destacadas esta un menor consumo de energía y disminución de tiempo en el proceso y un óptimo transporte de calor y masa lo que permite manejar temperaturas más bajas logrando tasas de supervivencia de los microorganismos más altas [5]. Esta técnica consiste en rociar una solución de recubrimiento o material encapsulante en un lecho fluidizado de partículas sólidas, en este caso sobre levaduras. Después de varios ciclos de mojado/secado, se forma una película continua que permite micro encapsular estos microorganismos [4].

No obstante, la técnica de revestimiento en estos secadores no ha sido muy utilizada para micro encapsular levaduras y la información de algunas investigaciones realizadas en otros países acerca de los métodos y materiales de revestimiento que se utilizan en este procedimiento están dispersas [6]. En consecuencia, no hay información clara sobre las estrategias de uso de técnicas como el lecho fluidizado para brindar una estabilidad a las levaduras. Por razones como esta, países como Colombia que a pesar de tener una producción de hasta 50 mil toneladas de levadura que va destinada principalmente a la exportación o a la industria panadera [7], ha incursionado poco en el mercado de concentrado animal con levaduras como probióticos; aun cuando una de sus actividades económicas es la cría de ganado.

En definitiva, existe la necesidad de contribuir al estado del arte de las metodologías para micro encapsular levaduras mediante la técnica de recubrimiento en secadores de lecho fluidizado; esto para ofrecer una revisión actualizada y un análisis acerca de los diferentes avances que se desarrollan en estos procesos. Por ende, en este artículo se presenta una evaluación sistemática de literatura y un metaanálisis de 31 estudios publicados en distintas bases de datos; con el fin de determinar las implicaciones técnicas de implementar los diferentes métodos de recubrimiento en lecho fluidizado y al mismo tiempo analizar el efecto de los materiales encapsulantes sobre la estabilidad térmica de la levadura. Todo esto se realiza con el objetivo de sugerir una metodología técnicamente viable que permita mantener la estabilidad de las características de calidad de las levaduras.

METODOLOGIA

Investigación bibliográfica y recopilación de datos

La metodología implementada en este estudio es una adaptación de Gonzales [8] y Franco [9]. En primer lugar, se llevó a cabo la selección de palabras clave a usar en el proceso de búsqueda. Para esto, a partir de la base de datos Scopus se realizó un análisis bibliométrico en RStudio que arrojó información sobre las palabras clave más utilizadas además de los países con mas investigación sobre el tema de microencapsulación de levaduras y lecho fluidizado. Algunos de estos resultados permitieron determinar que palabras clave se mencionaban en la mayor cantidad de textos para con esto guiar el proceso de búsqueda definitivo.

Las palabras clave seleccionadas fueron "Yeast", "Microencapsulation" y "Fluidized Bed". Además, se agregó "Coating" como variable independiente en las palabras clave para hacer referencia al mecanismo de encapsulación. A partir de estas, se realizó una búsqueda de literatura relacionada con la microencapsulación de levaduras. La información y datos se recopilaron de artículos de investigación, patentes y libros electrónicos seleccionados de las bases de datos Science Direct, Taylor & Francis, Springer Link, Scopus, Google Scholar y Espacenet. Un total de 94 textos entre artículos de investigación, patentes y libros electrónicos desde 1980 hasta 2021 fueron recuperados de las bases de datos. No obstante, se seleccionaron 31 de estos para usar en esta revisión basados en los siguientes criterios de inclusión:

- (i) Tipo de microencapsulación: recubrimiento en lecho fluidizado
- (ii) Publicado después de 1980
- (iii) Mencione algún método de recubrimiento en lecho o mida la viabilidad de la levadura y temperatura máxima empleada según el material encapsulante.

De cada texto se revisaron los métodos de recubrimiento en secadores de lecho fluidizado reportados en literatura. Además, se identificó las implicaciones técnicas para la implementación de cada método y las ventajas y desventajas que tienen unos sobre otros. Esto se consideró como base para la realización de las matrices DOFA que evaluaron cómo afectan los diferentes métodos de recubrimiento la estabilidad de la levadura.

Análisis de datos

Cada combinación de material de recubrimiento en cada artículo se consideró como un conjunto de datos dependientes a analizar. La variable de respuesta en este trabajo es el % de viabilidad de la levadura, el cual permite evaluar la estabilidad térmica. Se realizaron conversiones de unidades formadoras de colonias (UFC) a % de viabilidad para hacer comparables los resultados de los diferentes artículos. Toda la información (datos de tablas y figuras) se recopiló y organizó en una hoja de cálculo de Excel, que luego fue cargada a RStudio para su debida revisión. Aquí el material de recubrimiento representó el parámetro categórico y los datos de viabilidad el parámetro numérico.

Los datos recolectados de la literatura fueron analizados mediante un análisis de varianza unidireccional (ANOVA) en RStudio. Aquí, se evaluaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas que fueron corroborados mediante las pruebas de Shapiro y Bartlett, respectivamente. Después, se realizó la prueba de Tukey post hoc con un nivel de significancia del 95% ($\alpha = 0.05$). Las diferencias $ap \leq 0,05$ se consideraron estadísticamente significativas. Finalmente se llevó a cabo una gráfica de caja y bigotes que permitió analizar estos datos cuantitativos. El tamaño del efecto fue en relación con los materiales encapsulantes sobre la microencapsulación de levaduras por revestimiento en lecho fluidizado en respuesta a la estabilidad del microorganismo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis bibliométrico

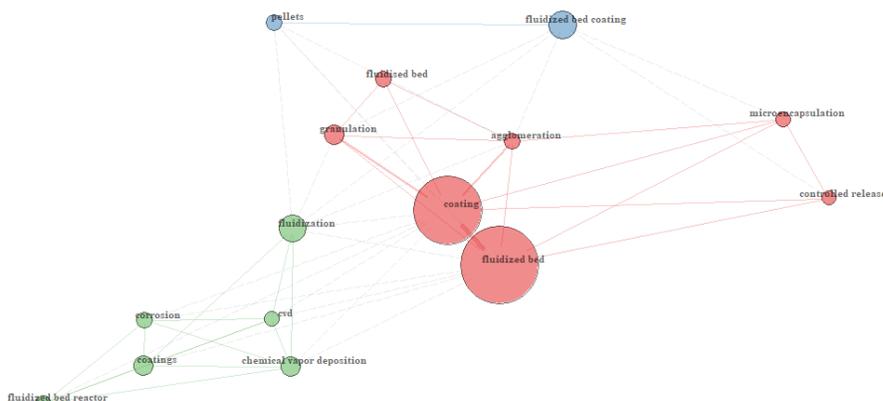


Figura 1. Gráfico que detalla el Top 15 de las palabras clave más utilizadas por los autores en los diferentes textos analizados sobre la microencapsulación en secadores de lecho fluidizado y levaduras. Además, se puede observar las ocurrencias de cada palabra clave y con cuál de las demás presenta una colaboración. Figura obtenida a partir del análisis en RStudio de 1885 textos provenientes de la base de datos Scopus hasta la fecha (30 de noviembre del 2021).

La **figura 1** permite conocer cuáles son las palabras más representativas del conjunto tan amplio de textos que tratan de la técnica de recubrimiento en secadores de lecho fluidizado, para de alguna manera permitir un filtro de búsqueda más reducido a la hora de futuras investigaciones. Por ejemplo, se puede observar que las palabras clave más utilizadas en los textos revisados fueron “Fluidized bed” y “Coating”. Estas presentan también relaciones con otras palabras importantes para este trabajo como lo es “Microencapsulation”. De ahí que, las palabras clave mencionadas con la adición de “Yeast” que hace referencia a el microorganismo del cual trata este trabajo fueron seleccionadas para guiar el proceso de búsqueda definitivo en diferentes bases de datos. Cabe resaltar, que las líneas entre diferentes palabras significan que estas se

presentan en algunos textos de manera conjunta.

Por otra parte, en la **figura 2** se muestran los 20 principales países que han tenido mayor participación e investigación sobre el tema que nos compete tratar, recubrimiento de levaduras en secadores de lecho fluidizado. Aquí podemos observar que Estados Unidos, China, Alemania, Reino Unido y Japón, son los países donde más información hay sobre este tema, respectivamente. No obstante, se puede corroborar que Colombia no hace parte de los países con mayor visibilidad en esta temática, ni presenta colaboraciones en estas investigaciones. De ahí la importancia de este trabajo, como acercamiento a los diferentes estudios realizados en otros países para contribuir al estado del arte de las metodologías para micro encapsular

levaduras mediante la técnica de recubrimiento en secadores de lecho fluidizado.

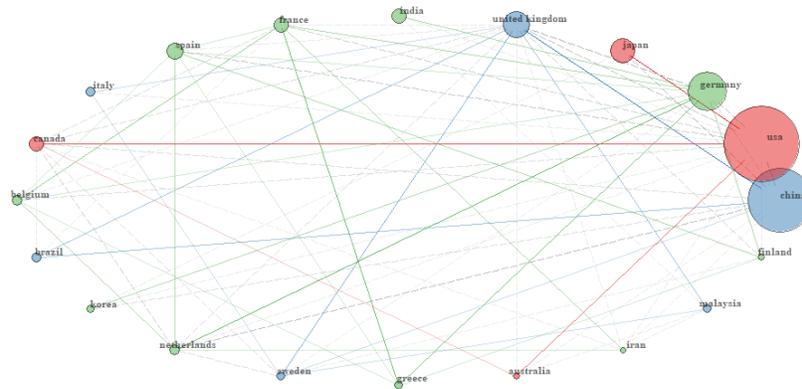


Figura 2. Gráfico que detalla el Top 20 de los países que han generado más información sobre la microencapsulación en secadores de lecho fluidizado y levaduras. Además, se puede observar las diferentes colaboraciones que han tenido con otros países al evaluar esta temática. Figura obtenida a partir del análisis en RStudio de 1885 textos provenientes de la base de datos Scopus hasta la fecha (30 de noviembre del 2021).

Métodos de recubrimiento empleados en secadores de lecho fluidizado

El proceso de recubrimiento en secadores de lecho fluidizado es un sistema ventajoso desde varios puntos de vista. En primer lugar, no requiere altas temperaturas de aire para secar las células, además, es un proceso altamente automático y del cual se puede obtener una gran cantidad de producto formulado con tiempos de proceso reducidos (4 min); en comparación con un mínimo de 3 h para la mayoría de los otros métodos de secado que utilizan aire a la misma temperatura y humedad relativa [32]. También, este proceso tiene un intercambio rápido de calor y masa entre gas y partículas lo que minimiza el sobrecalentamiento. Finalmente, esta técnica permite una mezcla rápida de sólidos que proporciona condiciones casi isotérmicas en todo el lecho

fluidizado y contenidos de humedad de partículas uniformes [32].

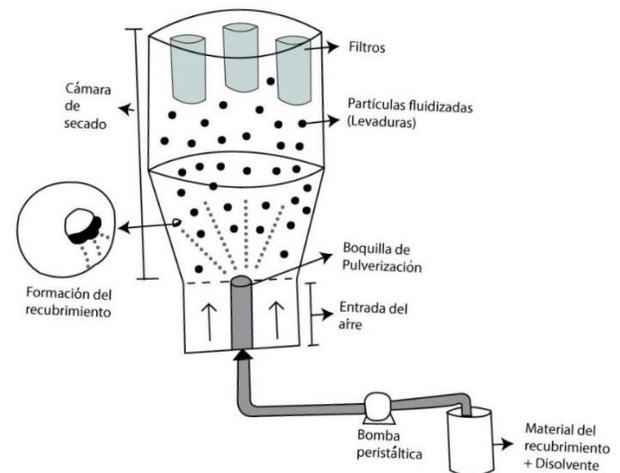


Figura 3. Proceso de recubrimiento en secadores de lecho fluidizado a partir de la pulverización de un material de recubrimiento mediante una boquilla ubicada

en posición de pulverización inferior. Figura obtenida mediante la adaptación de [33].

La técnica de recubrimiento en secadores de lecho fluidizado tiene tres métodos por los cuales se puede llevar a cabo su implementación: pulverización (inferior, tangencial y superior). Cada uno de estos métodos tiene un efecto diferente en la

calidad final del recubrimiento y por ende sobre la estabilidad de la partícula encapsulada. Además de presentar características y variables comunes, pero ventajas y limitaciones únicas. No obstante, el principio de recubrimiento es el mismo para cada opción, el principal cambio es la posición de la boquilla y la fluidización de las partículas [26].

METODOS DE RECUBRIMIENTO EN SECADORES DE LECHO FLUIDIZADO	
PULVERIZACIÓN SUPERIOR	<ul style="list-style-type: none"> Boquilla ubicada en la parte superior del lecho fluidizado.
PULVERIZACIÓN INFERIOR	<ul style="list-style-type: none"> Boquilla de pulverización ubicada en la parte inferior del lecho. Puede adecuarse en la parte inferior del lecho “el equipo Wurster”: cámara de recubrimiento con una partición cilíndrica y una pantalla inferior perforada con diferentes áreas libres.
PULVERIZACIÓN TANGENCIAL	<ul style="list-style-type: none"> Boquilla ubicada de manera tangencial para rociar el líquido de recubrimiento simultáneamente. Puede adecuarse el lecho fluido con un disco de rotor giratorio en el fondo del contenedor del producto. El disco contiene una placa base con ranuras que se cortan diagonalmente a través de la placa para dirigir angularmente el flujo de aire del proceso a medida que pasa a través de ella.
ESPECIFICACIONES DE LAS BOQUILLAS	<p>Boquillas binarias o neumáticas. Boquillas atomizadas por aire: permiten un mejor control del tamaño de la gota.</p> <p>Para tener en cuenta:</p> <ul style="list-style-type: none"> las gotas son más controlables con boquillas neumáticas, especialmente a bajas tasas de liquididad. El tamaño de la gota de la solución de recubrimiento debe seleccionarse en relación con el tamaño de las partículas que se recubren. La atomización del volumen de aire y la presión determinan el tamaño de las gotas, cuanto más altos son estos valores, más pequeñas son estas. El líquido por atomizar debe ser suministrado a baja presión para que se cizalle en gotas por aire. Las boquillas deben colocarse de forma que se minimice la distancia que recorren las gotas a través del aire de fluidización antes de incursionar con las partículas.

Tabla 1. Especificaciones de los métodos de recubrimiento en secadores de lecho fluidizado. Desde la referencia [10]-[31] se obtuvo esta información.

En la **tabla 2, 3 y 4** pueden observarse las diferentes matrices DOFA que presentan las debilidades, oportunidades, fortalezas y amenazas que trae consigo la

implementación de cada uno de estos métodos y como cada uno de ellos puede afectar el recubrimiento de la levadura y por ende su estabilidad en el proceso.

MATRIZ DOFA (Recubrimiento por pulverización superior)	
DEBILIDADES	OPORTUNIDADES
<ul style="list-style-type: none"> - No es adecuado para recubrir partículas individuales. - Promueve la aglomeración a medida que se pulveriza la solución debido a la alta densidad de partículas en el lecho. - El secado de la sustancia de recubrimiento puede ser bastante severo. - Controlar la distancia que recorren las gotas antes de entrar en contacto con la partícula es imposible, por ende, pueden producirse imperfecciones en el recubrimiento debido a la evaporación prematura de las gotas. - El patrón de fluidización es aleatorio y sin restricciones, no es posible un control perfecto del viaje de cada gota a la partícula. - Dado que una superficie máxima de las partículas está expuesta a la niebla de pulverización, este debe ser un proceso rápido. 	<ul style="list-style-type: none"> - Para reducir la aglomeración en estos sistemas se debe manejar una tasa de aplicación más lenta, más aire de fluidización para reducir la densidad de las partículas en la región de pulverización y elevar la (s) boquilla (s). - Para evitar la aglomeración, las partículas deben viajar lo suficientemente rápido a través de la zona de recubrimiento y las gotas deben ser lo suficientemente pequeñas para simplemente depositar el material de recubrimiento en la superficie de la partícula. - Las temperaturas de entrada para los procesos de evaporación deben establecerse proporcionando una capacidad de secado óptima sin secar el recubrimiento por pulverización antes del contacto con las partículas.
FORTALEZAS	AMENAZAS
<ul style="list-style-type: none"> - Incorpora una o más boquillas en cada una de las varias posiciones de pulverización potenciales que pulverizan hacia abajo en un lecho fluidizado. - Permite recubrir materiales tan pequeños como 100 μm. - Alta versatilidad. - Tamaño de lote relativamente alto. - Relativa simplicidad. 	<ul style="list-style-type: none"> - Las partículas granuladas por su tamaño requieren más aire para fluidificarse; por lo tanto, permanecen más bajo el lecho y permiten que las partículas más pequeñas se humedezcan y se aglomeren. - Reducir la aglomeración en estos sistemas conducen tanto a una eficiencia de recubrimiento reducida como a una uniformidad de recubrimiento deficiente debido al secado por pulverización y al movimiento de partículas menos ordenado. - El grado de protección que ofrece el recubrimiento está relacionado con la velocidad a la que se aplica y la lentitud con la que se forma.

Tabla 2. Matriz DOFA que representa el método de recubrimiento por pulverización superior en secadores de lecho fluidizado. Desde la referencia [10]-[31] se obtuvo esta información.

MATRIZ DOFA (Recubrimiento por pulverización inferior)	
DEBILIDADES	OPORTUNIDADES
<ul style="list-style-type: none"> - Las partículas más grandes no deben ser más de cuatro o cinco veces el tamaño de las más pequeñas para poder tener una buena distribución. - Tiempo de proceso más largo para recubrir partículas individuales sin aglomeración. - Si las partículas no presentan un tamaño similar no se tendrá un espesor uniforme en el recubrimiento. - El recubrimiento debe tener baja viscosidad para lograr recubrir partículas individuales. 	<ul style="list-style-type: none"> - La eliminación de la partición y la reducción del diferencial de aire de fluidización permite utilizar el proceso de pulverización inferior para granular. - Las gotas pulverizadas para el recubrimiento pueden extenderse a la viscosidad más baja, produciendo un recubrimiento muy denso con una calidad física superior. - Si las partículas se exponen en intervalos de tiempo muy regulares a una niebla de

<ul style="list-style-type: none"> - Cuando las partículas son más pequeñas que las gotas de rociado conducen a la aglomeración. - La distribución del tamaño de partículas debe ser relativamente estrecha. Si esta se vuelve demasiado amplia, las necesidades de flujo de aire para los extremos se vuelven demasiado amplios y la circulación de partículas se ve comprometida. 	<p>pulverización muy uniforme con gotas de propagabilidad uniforme, se podría lograr un recubrimiento de espesor uniforme.</p>
FORTALEZAS	AMENAZAS
<ul style="list-style-type: none"> - Minimiza el potencial de aglomeración y desgaste de las partículas. - Mejor proceso para recubrimiento de partículas individuales. - Las partículas completan un ciclo aproximadamente una vez cada 6 a 10 segundos en una configuración y carga de lote óptimas. - La placa de distribución de aire para un proceso Wurster crea zonas separadas para el flujo de aire diferencial. - El proceso se puede llevar a cabo hasta lograr el revestimiento o las propiedades deseadas. - Es posible recubrir materiales tan pequeños como 100 µm. - Patrón de fluidización controlado. - No presenta imperfecciones debido a que el sistema de pulverización no es aleatorio. - El camino de las gotas pulverizadas hacia el compuesto es extremadamente corto por ende no hay evaporación prematura de las gotas. - Flujo de partículas más ordenado debido a la partición física que crea una barrera entre las regiones del lecho ascendente y descendente. 	<ul style="list-style-type: none"> - Costos potencialmente más altos asociados con el equipo Wurster. - El tamaño de las gotas atomizadas puede ser un parámetro crítico cuando se recubren partículas individuales. - Un factor limitante para la fluidización es el área del fondo del lecho donde el flujo de aire debe ser adecuado para levantar o fluidizar al menos mínimamente las partículas. - Para lograr una circulación adecuada en un proceso Wurster se debe mantener una fluidización eficiente en la región del lecho inferior pero además tener suficiente aire en la región del lecho superior para diluir y hacer pasar las partículas completamente a través de la zona del lecho superior sin una velocidad excesiva.

Tabla 3. Matriz DOFA que representa el método de recubrimiento por pulverización inferior (Método Wurster) en secadores de lecho fluidizado. Desde la referencia [10]-[31] se obtuvo esta información.

MATRIZ DOFA (Recubrimiento por pulverización tangencial)	
DEBILIDADES	OPORTUNIDADES
<ul style="list-style-type: none"> - Las partículas que se encuentran en la región alta de pulverización junto con el secado y la acción física promueven la aglomeración hasta un tamaño uniforme. 	<ul style="list-style-type: none"> - La altura de disco ajustable permite el control del volumen de aire a través de la hendidura independientemente de la velocidad permitiendo tasas de secado muy bajas. - Alta densidad de las partículas en la zona de pulverización. En consecuencia, la calidad del recubrimiento por pulverización tangencial se mide completamente hasta el estándar de pulverización inferior.

FORTALEZAS	AMENAZAS
<ul style="list-style-type: none"> - Las boquillas incrustadas en la placa rocían al mismo tiempo que el aire de proceso y el movimiento de las partículas. - La (s) boquilla (s) están orientadas para rociar en una posición tangencial en el lecho de circulación. - Para aplicaciones de recubrimiento que requieren que un medio se evapore rápidamente, el volumen de aire se puede aumentar significativamente mientras se mantiene constante la velocidad del aire permitiendo un procesador de una sola unidad capaz de granular, peletizar, estratificar y recubrir. - Exposición uniforme de las partículas a la niebla de pulverización. - Pulverización concurrente, por lo tanto, hay una distancia mínima de viaje de las gotas. 	<ul style="list-style-type: none"> - Los gránulos producidos con el proceso tienden a ser más densos en comparación con otras granulaciones de lecho fluido con una superficie más lisa debido a las interacciones físicas entre las partículas.

Tabla 4. Matriz DOFA que representa el método de recubrimiento por pulverización tangencial en secadores de lecho fluidizado. Desde la referencia [10]-[31] se obtuvo esta información.

Dentro de las fortalezas más significativas del método de pulverización superior en comparación con la pulverización inferior y tangencial se encuentra su bajo costo y simplicidad tal como menciona Dewettinck & Huyghebaert en [13]. Este método solo requiere la implementación de una boquilla neumática que pulverizará la solución de recubrimiento desde la parte superior del lecho fluidizado. Por el contrario, el montaje necesario para llevar a cabo el método Wurster o el tangencial requiere además de la implementación de boquillas, la adaptación de la parte inferior del equipo lo cual aumenta los costos de inversión en el proyecto.

Pongamos por caso, la pulverización inferior como es mencionado por Frey en [15], para llevar a cabo este método es necesario adquirir el “equipo wurster”, una partición física de forma cilíndrica en la base del lecho fluidizado que contribuye a el flujo más ordenado de las partículas. Asimismo, el método de pulverización tangencial requiere la implementación de un disco de rotor

giratorio en el fondo del contenedor del producto para poder realizar la pulverización mediante esta técnica [26]. Por estas razones, a la hora de elegir el método de recubrimiento en lecho fluidizado se ha recurrido a elegir la pulverización superior debido a que los costos de inversión y de proceso son inferiores.

No obstante, el método de pulverización superior presenta riesgos que tienen una gran influencia en el proceso de recubrimiento de las partículas. Uno de los principales es la evaporación de la solución de recubrimiento debido al largo camino que recorre la gota a través del aire antes de incursionar con la partícula. Esta evaporación aumenta la viscosidad del material de cobertura, lo cual afecta el proceso debido a que la viscosidad debe ser lo suficientemente baja para que este fluya alrededor de la partícula y con el tiempo se solidifique para formar la microcápsula [25].

En el caso de la pulverización superior, además de que el patrón de fluidización es aleatorio y sin restricciones, la boquilla de atomización se encuentra demasiado lejos de las partículas fluidizadas por ende controlar la distancia que recorren las gotas antes de entrar en contacto con la partícula es imposible, por lo tanto, se producen imperfecciones en el recubrimiento debido a la evaporación prematura de las gotas. Por el contrario, como lo indica Guignon, Duquenoy, y Dumoulin [17] en su trabajo, la pulverización inferior y tangencial pocas veces presenta este problema gracias a la adaptación del equipo. La ubicación de las boquillas, la partición física cilíndrica del método Wurster y el disco de rotor giratorio del método tangencial permiten un patrón de fluidización controlado y reducen el camino de las gotas hacia las partículas evitando la evaporación prematura y las imperfecciones en el recubrimiento.

A partir de todo lo anterior, se puede analizar que a pesar de que la pulverización superior es un método más económico, el llevarla a cabo compromete la calidad final del producto y más cuando se espera un recubrimiento de partículas individuales. Al contrario, así el método wurster y tangencial tengan costos más altos de inversión, las partículas recubiertas que se obtienen por estos métodos presentan estructuras que protegen de manera específica a los microorganismos encapsulados. Un ejemplo de esto son las estructuras porosas que facilitan el escape de calor desde el interior de la partícula, lo cual causa menos lesiones a los microorganismos y contribuye a la mayor supervivencia después del secado. No obstante, es importante resaltar que el tener porosidades aumenta las probabilidades de

muerte o destrucción en un posterior almacenamiento, debido a que provoca que los microorganismos no estén bien protegidos contra los efectos del oxígeno atmosférico y la humedad [35]. Por otra parte, con estos métodos también se pueden obtener estructuras con superficies lisas, compactas y libres de poros, las cuales evitan el contacto directo con el oxígeno, previniendo así la degradación del microorganismo y alargando su tiempo de vida útil, volviéndolas más estables en el almacenamiento [35].

Efecto de los materiales de recubrimiento empleados para revestir diferentes cepas de levaduras en secadores de lecho fluidizado sobre la viabilidad del microorganismo

La microencapsulación de microorganismos, como las levaduras, ha llamado la atención a manera de alternativa para solucionar su poca capacidad de supervivencia en procesos con altas temperaturas y presiones [3]. El recubrimiento en secadores de lecho fluidizado se ha convertido en una opción de microencapsulación de levaduras llamativa debido a las bajas temperaturas de secado manejadas en el proceso [16]. No obstante, diferentes factores individuales afectan la viabilidad de las levaduras en un proceso de microencapsulación mediante la técnica de recubrimiento en secadores de lecho fluidizado, estos incluyen la temperatura de secado, el método de recubrimiento, la humedad, el tiempo del proceso y el material de recubrimiento. Como se analizó anteriormente, el método por el cual se recubre la levadura (pulverización inferior, superior y tangencial) determina en gran medida la estructura final del recubrimiento, y según como sea esta se puede ver afectada la viabilidad y estabilidad de estos

microorganismos. Sin embargo, se piensa que los materiales de recubrimiento afectan en mayor medida el proceso, debido a que actúan como soporte para conferir estructura física a las partículas, que son ellos los responsables de proteger las células del daño después de un proceso de secado [1].

Diferentes autores han revisado esta premisa, evaluando materiales de recubrimiento individuales o mezclas de estos a la misma temperatura para determinar cómo se ve afectada la viabilidad de la levadura [34]. Es importante identificar si la estabilidad térmica brindada en la microencapsulación está asociada solo con la temperatura del proceso o tiene que ver con el tipo de material de recubrimiento utilizado, ya que en este estudio se están considerando 9 tipos de materiales y mezclas de ellos en soluciones acuosas. Cabe aclarar que no se incluyeron matrices no acuosas como lípidos, porque en los estudios analizados las levaduras encapsuladas con cera vegetal o ácido esteárico reportaban porcentajes de viabilidad menores al 50% después del recubrimiento en secadores de lecho fluidizado.

Ahora bien, en relación con el análisis estadístico los supuestos de normalidad y varianza constante se verificaron, por medio de las pruebas de Shapiro ($p=0.019$) y Bartlett ($p=0.05$), corroborando que los datos eran aptos para ser analizados por un ANOVA estadístico. El análisis mostro una diferencia estadísticamente significativa entre el tipo de material de recubrimiento y el porcentaje de viabilidad de las levaduras con un valor p de 7.79×10^{-10} . Como se presenta en la **figura 4**, el uso de sacarosa y leche descremada con maltodextrina y con almidón de patata

pregelatinizado mostraron los mayores porcentajes de viabilidad de las levaduras después del proceso de recubrimiento en lecho fluidizado.

Estos resultados coinciden con lo reportado por Cayra, Dávila, Villalta, & Rosales [34], quienes mostraron que la leche descremada tiene un efecto positivo sobre la protección de los microorganismos durante el proceso de encapsulación. Cuando ocurre la deshidratación, este material es capaz de prevenir daños en las células mediante la estabilización de la membrana pues contiene proteínas que proporcionan un recubrimiento protector; lo cual evita el choque osmótico, la disrupción y la muerte celular. Además, este estudio muestra que la leche descremada ofrece una alta protección en el almacenamiento a largo plazo solo si se mezcla con un carbohidrato, la maltodextrina en este caso. Los carbohidratos, los azúcares de bajo peso molecular pueden estabilizar la membrana y las cadenas de proteínas de las células, mediante la sustitución de las moléculas de agua con enlaces de hidrógeno molecular durante los procesos de secado. El efecto protector de los azúcares se atribuye a su capacidad para formar estructuras cristalinas que proporcionan protección a las proteínas funcionales de la célula y a su capacidad para reemplazar el agua asociada a los grupos polares de los lípidos de la membrana [34].

Así mismo, los resultados obtenidos por Carbó, Torres, Usall, Solsona & Teixidó [33] coinciden en que el almidón de patata pregelatinizado, la maltodextrina y la leche descremada son sustancias formadoras de película. Por ejemplo, la maltodextrina por sí sola forma un recubrimiento pelicular de

forma natural y puede usarse como aglutinante sin problemas debido a que su viscosidad después de la rehidratación del producto formulado es adecuada. Además, la

leche descremada previene el daño celular en los productos secados, y también los azúcares actúan como protectores efectivos.

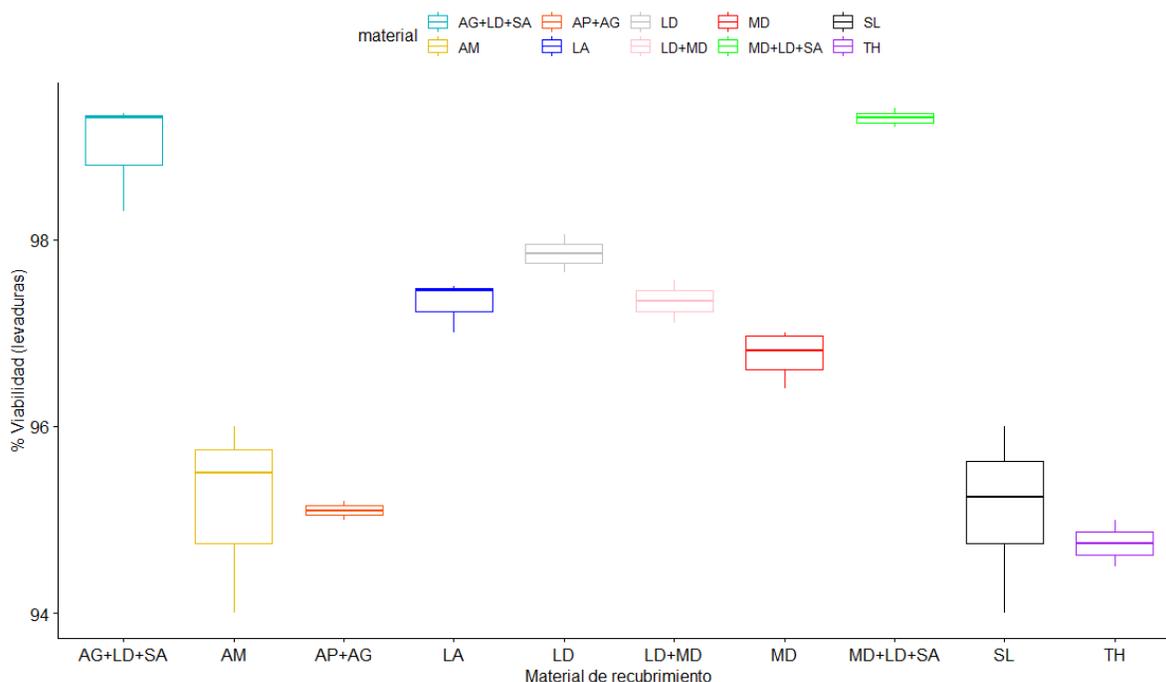


Figura 4. Viabilidad de diferentes cepas de levaduras después de un proceso de revestimiento en secadores de lecho fluidizado en términos de %, en función del tipo de material de recubrimiento utilizado. Los materiales evaluados son AG (Almidón de patata pregelatinizado), LD (Leche descremada), SA (Sacarosa), AM (Almidón de maíz), AP (Almidón de patata), LA (Lactosa), MD (Maltodextrina), SL (Suero de leche) y TH (Trehalosa). Desde la referencia [32]-[38] se obtuvo esta información para luego ser analizada con un ANOVA en RStudio. Los datos corresponden a las mejores condiciones reportadas por los autores en cada artículo (Ver Anexo).

CONCLUSIONES

Los métodos de pulverización por los cuales se puede llevar a cabo el recubrimiento en secadores de lecho fluidizado son un factor para tener en cuenta a la hora de realizar la microencapsulación. El método de pulverización superior, inferior y tangencial determinan en gran medida la estructura final de la partícula recubierta. En referencia a esto, la pulverización superior presenta

diferentes problemas, principalmente en la evaporación de la solución de recubrimiento debido a la posición tan lejana de la boquilla y al patrón de fluidización aleatorio, lo cual genera imperfecciones en el revestimiento de la partícula. Por el contrario, en el método de pulverización inferior se logra conseguir un recubrimiento de partículas individuales sin imperfecciones, puesto que se tiene un patrón de fluido controlado y una boquilla que pulveriza en la misma dirección de la

fluidización de las partículas. Con relación a, el porcentaje de viabilidad después de un proceso de microencapsulación por técnicas de secado, se identifica que es un parámetro importante en la evaluación de la estabilidad térmica de las levaduras, sin embargo, al estudiar este parámetro, es relevante tener en cuenta el material encapsulante con el que fue recubierto ya que puede influir en la resistencia a las altas temperaturas. En este estudio, luego de un análisis de los diferentes porcentajes de viabilidad recuperados de la literatura, se demostró que los materiales de recubrimiento mas resistentes a altas temperaturas fueron la leche descremada, sacarosa, maltodextrina y almidón de patata pregelatinizado. Los resultados mostraron que las proteínas que contienen algunos de estos materiales son capaces de prevenir daños en las células mediante la estabilización de la membrana. Además, el efecto protector de los azúcares se le atribuye a la capacidad de formar estructuras cristalinas que proporcionan protección a las proteínas funcionales de la célula. El método de recubrimiento y los materiales encapsulantes con los cuales se lleva a cabo el revestimiento en secadores de lecho fluidizado determina en gran medida la calidad final de la partícula recubierta y por ende su estabilidad. Basado en los resultados obtenidos y con el proposito de proporcionarle una estabilidad a la levadura, se propone realizar el proceso mediante el método de pulverización inferior, con maltodextrina combinada con sacarosa y leche descremada por materiales encapsulantes a ser pulverizados, como los mejores candidatos para la microencapsulación de levaduras por la técnica de revestimiento en secadores de lecho fluidizado. No obstante, se recomienda seguir investigando para comparar otros

materiales de recubrimiento que sean empleados en futuros estudios.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Chaparro, M., Cespedes, E., Cruz, M., Castillo-Saldarriaga, C., & Gomez- Alvarez, M. (2017). FLUIDIZED BED DRYING OF A GRANULATED PROTOTYPE BASED ON APOTENTIAL PROBIOTIC YEAST *Meyerozyma guilliermondii*: SELECTION OF PROCESS PARAMETERS AND DRYING PROTECTANT. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*.
- [2] Paulino, J. (18 de Noviembre de 2013). *El Sitio Avícola* . Obtenido de <https://www.elsitioavicola.com/articulos/2482/peletizacion-y-calidad-del-pelet/>.
- [3] Mohs, E. (2019). Entraremos en el mercado de los probióticos. *Portafolio*.
- [4] Schell, D., & Beermann, C. (2014). Fluidized bed microencapsulation of *Lactobacillus reuteri* with sweet whey and shellac for improved acid resistance and in-vitro gastrointestinal survival. *Food Research International*.
- [5] Chua, K., & Chou, S. (2003). Low-cost drying methods for developing countries. *Trends in Food Science & Technology*.
- [6] Strasser, S., Neureiter, M., Gepl, M., Braun, R., & Danner, H. (2009). Influence of lyophilization, fluidized bed drying, addition of protectants, and storage on the viability of lactic acid bacteria. *Applied Microbiology*.
- [7] Portafolio. (2017). El negocio de la levadura de *Levapan* se sigue expandiendo. *PORTAFOLIO*.
- [8] Gonzáles, S., & Thaura, G. (2021). Heavy Metals in Soils and the Remediation Potential

of Bacteria Associated With the Plant Microbiome. *Frontiers in Environmental Science*.

[9] Franco, V., Moreno, S., & Ghneim, T. (2021). Are Endophytic Bacteria an Option for Increasing Heavy Metal Tolerance of Plants? A Meta-Analysis of the Effect Size. *Frontiers in Environmental Science* .

[10] Arshady, R. (1993). Microcapsules for food. *Journal of Microencapsulation*.

[11] Ciamponi, F. (2011). Characterisation of microencapsulation processes in *Saccharomyces cerevisiae*. *University of Manchester*.

[12] Daud, W. (2008). Fluidized Bed Dryers — Recent Advances. *Advanced Powder Technology*.

[13] Dewettinck, K., & Huyghebaert, A. (1999). Fluidized bed coating in food technology. *Engineering Environmental Science*.

[14] Đorđević, V., Balanč, B., Belščak-Cvitanović, A., Lević, S., Trifković, K., Kalušević, A., Nedović, V. (2014). Trends in Encapsulation Technologies for Delivery of Food Bioactive Compounds. *Food Engineering Reviews*.

[15] Frey, C. (2014). Chapter 7 - Fluid Bed Coating-Based Microencapsulation.

[16] Gaonkar, A., Vasisht, N., Khare, A., & Sobel, R. (2014). *Microencapsulation in the food industry*. Academic Press.

[17] Guignon, B., Duquenoy, A., & Dumoulin, E. D. (2007). FLUID BED ENCAPSULATION OF PARTICLES: PRINCIPLES AND PRACTICE. *Drying Technology* .

[18] H. Desai, K. G., & Park, H. J. (2007). Recent Developments in Microencapsulation of Food Ingredients. *Drying Technology*.

[19] Huang, K., Yuan, Y., & Baojun, X. (2021). A Critical Review on the Microencapsulation of Bioactive Compounds and Their Application. *Food Reviews International*.

[20] Meiners, J. (2012). 7 - Fluid bed microencapsulation and other coating methods for food ingredient and nutraceutical bioactive compounds. *Woodhead Publishing*.

[21] Meiners, J.-A. (2009). Micro-Encapsulation of Probiotics. *Prebiotics and Probiotics Science and Technology* .

[22] Mörl, L., Heinrich, S., & Peglow, M. (2007). Chapter 2 Fluidized bed spray granulation. *Materials Science*.

[23] Nedović, V., Kalušević, A., Manojlović, V., Petrović, T., & Bugarski, B. (2013). Encapsulation Systems in the Food Industry. *Advances in Food Process Engineering Research and Applications*.

[24] Norring Christensen, F., & Bertelsen, P. (2008). Qualitative Description of the Wurster-Based Fluid-Bed Coating Process. *Drug Development and Industrial Pharmacy*.

[25] Oxley, J. (2014). Chapter 4 - Overview of Microencapsulation Process Technologies. Academic Press.

[26] Prüße, U., & Vorlop, K.-D. (2002). Aus dem Institut für Technologie und Biosystemtechnik. *Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft (FAL)* .

[27] Ray, S., Raychaudhuri, U., & Chakraborty, R. (2016). An overview of encapsulation of

active compounds used in food products by drying technology. *Food Bioscience*.

[28] Rodrigues, F., Cedran, M., Bicas, J., & Sato, H. (2020). Encapsulated probiotic cells: Relevant techniques, natural sources as encapsulating materials and food applications – A narrative review. *Food Research International*.

[29] Shelukar, S., Ho, J., Zega, J., Roland, E., Yeh, N., Quiram, D., Reynolds, S. (2000). Identification and characterization of factors controlling tablet coating uniformity in a Wurster coating process. *Powder Technology*.

[30] Teunou, E., & Poncelet, D. (2002). Batch and continuous fluid bed coating – review and state of the art. *Journal of Food Engineering*.

[31] Zuidam, N. J., & Shimoni, E. (2009). Overview of Microencapsulates for Use in Food Products or Processes and Methods to Make Them. *Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing*.

[32] Bayrock, D., & Ingledew, W. (1997). Mechanism of viability loss during fluidized bed drying of baker's yeast. *Food Research International*.

[33] Carbó, A., Torres, R., Usall, J., Solsona, C., & Teixidó, N. (2017). Fluidised-bed spray-drying formulations of *Candida sake* CPA-1 by adding biodegradable coatings to enhance their survival under stress conditions.

BIOTECHNOLOGICAL PRODUCTS AND PROCESS ENGINEERING.

[34] Cayra, E., Dávila, J. H., Villalta, J. M., & Rosales, Y. (2017). Evaluación de la Estabilidad y Viabilidad de Dos Cepas Probióticas Microencapsuladas por Lecho Fluidizado. *Información tecnológica*.

[35] Larena, I., De Cal, A., Liñán, M., & Melgarejo, P. (2003). Drying of *Epicoccum nigrum* conidia for obtaining a shelf-stable biological product against brown rot disease. *Society for applied microbiology*.

[36] Marín, A., Atarés, L., Cháfer, M., & Chiralt, A. (2017). Stability of biocontrol products carrying *Candida sake* CPA-1 in starch derivatives as a function of water activity. *Biocontrol Science and Technology*.

[37] Vasisht, N. (2014). Chapter 16 - Selection of Materials for Microencapsulation. Academic Press.

[38] Vingerhoeds, M. H., & Harmsen, P. F. (2004). Proteins: Versatile Materials for Encapsulation. *Fundamentals of Cell Immobilisation Biotechnology*.

[39] Durand, H., & Panes, J. (2007). *United States Patente nº US 7157258 B2*.

[40] Suárez, E. (2019). Microencapsulación de levadura *Saccharomyces cerevisiae* como fuente de probióticos. UNIVERSIDAD TECNICA DE AMBATO.