

---

## **Addition of probiotic (*Lactobacillus salivarius* spp. *Salivarius*) in apple var. Granny Smith (*Malus domestica* X *M. sylvestris*) by vacuum impregnation technique and hot air convection drying**

---

**Maria M. Morales**

**Rossy L. Rodríguez**

**Carol D. Coello**

**L.E. Mayorga**

Universidad Técnica Estatal de Quevedo

Quevedo, Ecuador

**Abstract:** *The aim of this research was determined the influence of the vacuum impregnation technique for the addition of probiotic (*Lactobacillus salivarius salivarius*), in apple var. Granny Smith (*Malus domestica* X *M. sylvestris*), and the preservation of the microorganisms with convection drying (SAC). The apples were cut slices (6x60 mm) and used in tangerine juice as impregnation liquid; The system replaces the occluded air in the apples` pores for impregnation liquid enriched with probiotic and then dried with hot air by convection. Analytical determinations were measured for inoculating tangerine juice (pH, ° Brix and density) the pH and density values were increased by microbial activity of the probiotic. Vacuum Impregnation (IV) is a technique for incorporating components into a product (hydrodynamic mechanism). The difference of the mass in the apples were 10.5% with values of porosity ( $\epsilon = 0.203 \pm 0.008$ ) by effect of the pressure gradient. The results were an average concentration of probiotic ( $3.07 \pm 2.20$ )  $\times 10^8$  CFU.g<sup>-1</sup> in vacuum impregnated apple. The drying process affected the content of the probiotic, decreasing the concentration ( $1.58 \pm 1.03$ )  $\times 10^4$  CFU.g<sup>-1</sup> due to the sensitivity to temperature, because it is necessary review the drying conditions and variables control, in order to improve the conservation of probiotic.*

*Addition of probiotic (Lactobacillus salivarius spp. Salivarius) in apple var. Granny Smith (Malus domestica X M. sylvestris) by vacuum impregnation technique and hot air convection drying*

**Key words:** *Functional food, tangerine juice, apples slices, microorganism (Lactobacillus salivarius spp.salivarius), hydrodynamic mechanism.*

**Adición de probiótico (*Lactobacillus salivarius spp. salivarius*) en manzana var. Granny Smith (*Malus domestica X M. sylvestris*) por técnica de impregnación al vacío y secado con aire caliente por convección**

**Resumen:** *El objetivo de este estudio fue determinar la influencia de la técnica de impregnación al vacío (IV) para la adición de probiótico (*Lactobacillus salivarius spp. salivarius*), en láminas de manzana var. Granny Smith (*Malus domestica X M. sylvestris*), y la conservación de los microorganismos con la aplicación de secado con aire caliente por convección (SAC). Se cortaron láminas de manzana de 6x60mm y se utilizó jugo de mandarina como líquido de impregnación; en el sistema se reemplaza el aire ocluido en los poros de la manzana por líquido de impregnación enriquecido con probiótico para después ser secadas. Se midieron las determinaciones analíticas de pH, °Brix y densidad, las cuales están influenciadas por la actividad microbiana del probiotico. La diferencia media en la masa neta de las láminas de manzana fue del 10.5% por efecto del gradiente de presión y la disponibilidad de los espacios intercelulares para la incorporación del líquido de impregnación enriquecido está definido por la porosidad  $\epsilon$  de la manzana ( $0.203 \pm 0.008$ ). Se aplicó un análisis estadístico con el software R con regresión lineal y un nivel de significancia del 95%, se determinó una concentración media del probiotico de  $(3.07 \pm 2.20) \times 10^8$  UFC.g-1 en manzana (IV), valores requeridos para lograr un efecto beneficioso y ser descrito como un alimento funcional. El proceso de secado afectó el contenido del probiótico, disminuyendo la concentración media  $(1.58 \pm 1.03) \times 10^4$  UFC.g-1, variabilidad relacionada con factores como: el tiempo de secado, temperatura del horno y velocidad del aire.*

**Palabras Claves:** *Alimento funcional, jugo de mandarina, láminas de manzana, microorganismos benéficos (Lactobacillus salivarius spp.salivarius), mecanismo hidrodinámico.*

## **1. Introducción**

La manzana var. Granny Smith (*Malus domestica* X *M. sylvestris*), es una de las frutas más importantes cultivada en las regiones templadas del mundo, su piel es de un color verde, la pulpa es blanca, muy densa, crujiente y de sabor ácido; es una fruta de consumo frecuente y constituye una de las principales fuentes de polifenoles por lo que es rica en antioxidantes, una de sus principales ventajas es la acción reguladora del intestino, gracias a su contenido de fibra soluble e insoluble. Contiene vitaminas del grupo B (B1, B2 y B6), vitamina C, fósforo, potasio y calcio, ácido málico y tartárico que facilitan la digestión de aquellos alimentos que posean un alto contenido en grasas (Alva et al., 2014).

Actualmente el consumidor pone especial atención a la selección de sus alimentos orientado por la disponibilidad de evidencia científica de que la mayor ingesta de ciertos ingredientes añadidos dentro de una dieta normal genera mayores beneficios para la salud. En las últimas décadas, los productos alimentarios han sido elaborados con el objeto de satisfacer las exigencias del consumidor en cuanto a sabor, apariencia, valor y comodidad. La idea es diseñar alimentos con efectos beneficiosos para la salud y que responden a un mayor reconocimiento del papel que tiene la dieta en la prevención y el tratamiento de enfermedades (Feigenblatt. 2012). Por lo tanto, un alimento funcional es aquel que contiene un componente, nutriente o no nutriente, con efecto selectivo sobre una o varias funciones del organismo, con un efecto añadido por encima de su valor nutricional y cuyos efectos positivos justifican que pueda reivindicarse su carácter funcional o incluso saludable (Stephen, 2000).

***Addition of probiotic (Lactobacillus salivarius spp. Salivarius) in apple var. Granny Smith (Malus domestica X M. sylvestris) by vacuum impregnation technique and hot air convection drying***

En el sistema de digestión, la flora intestinal se encuentra en un estado de constante de flujo, y el balance entre microorganismos y ambiente intestinal puede ser alterado por: la dieta, el alcohol, los alimentos contaminados, los antibióticos, el estrés y el envejecimiento, al igual que por desórdenes digestivos y enfermedades (Collins y Gibson, 1999). El desequilibrio en el sistema (aumento de bacterias patógenas o disminución de bacterias beneficiosas) de la composición de la flora intestinal (disbiosis), puede disminuir el efecto de barrera protectora y contribuir a la aparición de enfermedades gastrointestinales (Villanueva-Flores, 2015). Los probióticos son microorganismos vivos que pueden agregarse a la formulación de un producto; un alimento probiótico es aquel en el que los microorganismos permanecen activos en el intestino y ejercen un importante efecto fisiológico como es el contribuir al equilibrio de la microbiota intestinal y potenciar el sistema inmunitario, estudios preliminares han demostrado una acción inhibitoria del *Lactobacillus casein*, y *L. acidophilus* sobre la bacteria *Helicobacter pylori* (Betoret, *et al.*, 2012), cuando son ingeridos en cantidades suficientes.

Los probióticos son microorganismos utilizados en los alimentos ya que son capaces de sobrevivir al paso por el aparato digestivo, además de proliferar en el intestino, es decir son resistentes a los jugos gástricos y a las etapas de la digestión, por lo tanto, el alimento tiene la función de ser un transporte del probiótico hasta llegar al lugar donde cumplirá su función. Las especies de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* son las más frecuentemente identificadas como microorganismos probióticos, bacterias ácido lácticas, entre las que se incluye la especie *Lactobacillus* tienen un papel importante en la conservación de alimentos en procesos de fermentación y además pueden proporcionar un efecto benéfico a la salud. Su mecanismo de acción se basa en inducir un pH <4 por la producción de ácido láctico y acético, favoreciendo el crecimiento de bacterias benéficas e impidiendo la colonización de la mucosa intestinal por bacterias potencialmente patógenas, mediante la competencia por los sitios de adhesión y por los nutrientes, además de la producción de

antimicrobianos y el aumentando de los niveles de anticuerpos. Sin embargo, el término “probiótico” debería reservarse para los microorganismos vivos que en estudios controlados en humanos han demostrado conferir beneficios a la salud (Guarner et al., 2011). Se ha comprobado el efecto de determinadas cepas de probióticos utilizando *Lactobacillus rhamnosus* GG y *Bifidobacterium lactis* BB-12 en la prevención y tratamiento de la diarrea aguda, causada principalmente por rotavirus en niños (Szajewska et al., 2001). Los productos deben contener una concentración mínima de organismos viables al momento de consumo de (106UFC/mL), además de consumir una cantidad mayor de 100mL al menos 2 veces por semana (Brito, C. 2009). Según la Federación Internacional de Productos Lácteos el nivel promedio comúnmente reportado requerido para lograr efectos beneficiosos en alimentos que contienen probióticos es  $> 100$  millones ( $1 \times 10^8$  de células viables/día) (FAO/WHO, 2002; Hill et al., 2014; Villanueva-Flores, 2015).

La impregnación al vacío (IV) ha sido confirmada como una técnica eficaz en la incorporación de componentes con actividad fisiológica tales como microorganismos probióticos, vitaminas, minerales, fibra dietética o ácidos grasos omega-3, sin modificar sustancialmente sus propiedades organolépticas (Patente P99 02730-5), en estructuras porosas de determinadas frutas y hortalizas. La (IV) es un método de procesamiento mínimo que aprovecha la micro estructura porosa de las matrices de los alimentos, para reemplazar el gas encerrado en su estructura celular por solutos contenidos en un líquido de impregnación mediante acción capilar y gradientes de presión impuestas en el sistema (Barrera et al., 2004). Involucra un intercambio de materia promovido por la acción de un mecanismo hidrodinámico entre un sistema sólido-líquido, acoplado a un fenómeno de deformación-relajación en la matriz sólida del alimento (Betoret, 2002; Betoret et al., 2003). En el mecanismo hidrodinámico, el material poroso se somete a una presión subatmosférica durante un determinado tiempo, con la finalidad de conseguir la desgasificación de la estructura porosa,

*Addition of probiotic (Lactobacillus salivarius spp. Salivarius) in apple var. Granny Smith (Malus domestica X M. sylvestris) by vacuum impregnation technique and hot air convection drying*

debido a la expansión del aire para equilibrar la presión aplicada; al reestablecer la presión atmosférica se crea un nuevo gradiente de presión que actúa como fuerza impulsora para que el líquido ingrese en los poros (Alzamora et al., 2005). Este proceso está influenciado por la porosidad, propiedades físicas, químicas y mecánicas, tamaño y forma del alimento, viscosidad de la solución de impregnación o solución externa, propiedades físicas y químicas de los compuestos fisiológicamente activos, presiones y tiempos de vacío (Ostos et al., 2012).

El secado por aire caliente (SAC) es una operación unitaria ampliamente utilizada que implica la transferencia de calor y de masa a través de la membrana plasmática implicando la remoción de agua y disminuyendo el potencial desarrollo de microorganismos y reacciones químicas indeseadas, prolongando la vida útil del producto además de permitir un almacenamiento y transporte a bajo costo (Puente et al., 2010).

El objetivo de este estudio fue determinar la influencia de la técnica de impregnación al vacío para la adición de microorganismos probióticos (*Lactobacillus salivarius* spp. *salivarius*), en láminas de manzana var. Granny Smith (*Malus domestica* X *M. sylvestris*), y la conservación de los microorganismos con la aplicación de secado con aire caliente por convección.

## **Metodología**

### **Materiales**

#### **Materia prima**

Manzanas de la variedad Granny Smith (*Malus domestica* X *M. sylvestris*): Se utilizó como materia prima principal, 5 Kg de fruta fue seleccionada por su disponibilidad durante todo el año y su elevado grado de porosidad para la aplicación del proceso de

impregnación. Las manzanas fueron seleccionadas, lavadas, peladas y cortadas en láminas de 6 mm de espesor y 60 mm de diámetro.

Líquido de Impregnación: Se utilizó como líquido de impregnación 10 litros de jugo de mandarina, (*Citrus reticulata* var. Satsumas – Okitsu/Owari), las mandarinas fueron lavadas, cortadas y exprimidas manualmente separando el zumo de los residuos sólidos sin agregar agua.

### **Cepa de microorganismos**

Se utilizó una cepa liofilizada de cultivo de *Lactobacillus salivarius* spp. *Salivarius* (cultivos Probio-Tec productos probióticos de primera clase de Chr. Hansen NU-TRISH). La cual fue reconstituida suspendiendo en 2mL de medio MRS (DeMan, Rogosa y Sharpe), para posteriormente ser diluido en 250mL de medio específico e incubado a 37°C por 24h.

### **Medio de crecimiento**

Como medio de cultivo específico recomendado para el correcto metabolismo de las bacterias ácido lácticas, se utilizó medio de cultivo MRS (69964 MRS Agar (*Lactobacillus* Agar acc. to De Man, Rogosa and Sharpe) y jugo de mandarina como líquido de impregnación, proporcionando un medio adecuado para el crecimiento de los microorganismos, se adiciono levadura (5g/L) y bicarbonato de sodio (10g/L) con la finalidad de promover el crecimiento del microorganismo de interés y evitar otro tipo de bacterias. Para la inoculación del jugo de utilizo 4ml de medio MRS que contiene el probiótico y se incubó a 37°C por 24h.

### **Método**

#### **Técnica de procesamiento**

Para la impregnación a vacío se sumergió las láminas de manzana en el jugo de mandarina enriquecido con probiótico. El

*Addition of probiotic (Lactobacillus salivarius spp. Salivarius) in apple var. Granny Smith (Malus domestica X M. sylvestris) by vacuum impregnation technique and hot air convection drying*

equipo empleado consta de una cámara hermética con una cesta de rejilla plástica que contiene las muestras de manzana se conectó a una bomba de vacío (Bomba manual de una sola etapa, serie X, Shanghai, China) y se aplicó una presión de vacío de 50 mbar durante 10 minutos, seguidamente se procedió a restaurar la presión atmosférica hasta lograr la estabilización del sistema durante un tiempo igual al anterior (10 min), manteniendo las muestras sumergidas en la disolución; se filtró el líquido y las láminas de manzana impregnadas al vacío, una fracción de manzanas impregnadas fueron analizadas en función a las determinaciones analíticas indicadas, se determinó la variación neta de la masa de las muestras (salida de aire de los poros de la manzana e ingreso de líquido de impregnación con probiótico) debido al gradiente de presión, finalmente una fracción de láminas de manzana impregnada con probiótico fueron secadas con aire caliente por convección (SAC) en un horno con circulación de aire constante (Horno de secado por convección forzada electrotermal, AWD-101-1AB, Liaoning, China) a 45 °C durante 24 horas.

Para la verificación de los resultados se realizó el recuento de viables del líquido de impregnación (jugo de mandarina inoculado con *Lactobacillus salivarius* spp. *salivarius*), de manzana (*M. domestica*) impregnada al vacío (IV) y de manzana secada con aire caliente por convección (SAC) las cuales fueron sembradas por procedimiento de dilución seriada (de 100 a 107) a profundidad y en placa con doble capa de agar e incubación a 37 °C durante 24h.

### **Determinaciones analíticas**

Las determinaciones analíticas se realizan tanto para el jugo de mandarina como para el líquido de impregnación.

Densidad aparente: la medición del jugo de mandarina como líquido de impregnación se la realiza por el método del picnómetro de líquidos a temperatura ambiente y agua destilada como referencia ecuación (1).

$$\rho_L = \rho_{\text{Agua}} \frac{P_1 - P_0}{P_2 - P_0} \quad (1)$$

Donde:

$\rho_{\text{Agua}}$  = densidad del agua a 25°C

P0 = peso picnómetro vacío (g)

P1 = peso picnómetro lleno + muestra (g)

P2 = peso picnómetro lleno + agua (g)

La densidad real fue determinada con la ecuación (2), a partir del contenido de humedad ( $X_w$ ), donde fue considerado que la muestra está compuesta únicamente por carbohidratos y agua.

$$\rho_{\text{real}} = \frac{1}{\frac{1-x}{1590} + \frac{x}{1000}} \quad (2)$$

Determinación de sólidos solubles: el contenido de sólidos solubles se realizó utilizando un refractómetro portátil Atago MASTER 20M de 0 – 20°.

Determinación de pH: la medición se realizó utilizando un potenciómetro Metrohm 702 SM Titrino potentiometric titratorn, calibrado con solución buffer pH 7.0 y 4.0.

Estimación de la concentración microbiana: A partir del número de unidades formadoras de colonia (UFC) en la manzana impregnada al vacío, se estima la concentración microbiana del líquido de impregnación, en manzana impregnada y en manzana seca con aire caliente por convección, considerando un sistema en estado estacionario, aplicando un balance materia.

*Addition of probiotic (Lactobacillus salivarius spp. Salivarius) in apple var. Granny Smith (Malus domestica X M. sylvestris) by vacuum impregnation technique and hot air convection drying*

Cantidad neta de masa: Se analizó el efecto que ejerce el líquido de impregnación sobre la variación de la masa neta de las muestras de manzana durante de operación de impregnación al vacío ( $\Delta M_{IV}$ ) ecuación (3).

$$\Delta M_{IV} = \frac{M_{IV} - M_0}{M_0} \quad (3)$$

$M_0$ : masa de la muestra en estado fresca (g)

$M_{IV}$ : masa de la muestra de manzana impregnada (g)

*Determinación de la humedad:* según norma AOAC 934.06 (1996), se determinó la cantidad de agua evaporada por diferencia de pesos en una estufa a 60°C, ecuación (4).

$$X_w = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \quad (4)$$

$m_0$ : masa del crisol vacío (g)

$m_1$ : masa del crisol con la muestra húmeda (g)

$m_2$ : masa del crisol con la muestra seca (g)

*Porosidad de las muestras:* se calculó en función de la relación de compresión  $r = P_{atm}/P_{vacio}$ , y la fracción volumétrica del líquido incorporado ( $X$ ) ecuación (5).

$$\varepsilon = \frac{r(X - \gamma)}{(r - 1)} \quad (5)$$

## **Análisis Estadísticos**

Se realizó un análisis de varianza con un nivel de significancia del 95% ( $p \leq 0,05$ ), aplicando el software estadístico R, versión 3.6.0 (2019-04.26) con una regresión lineal, para lo cual se consideró como variable independiente a la dilución de siembra (10x) y como variables dependientes a la concentración de probiótico (UFC.g-1) en manzana (IV) y en manzana (SAC) además se estableció el coeficiente de determinación  $R^2$  como medida de la eficiencia del modelo.

## **Discusión**

Las determinaciones analíticas del jugo de mandarina, de líquido de impregnación y de las muestras de manzana en estado fresco y con secado con aire caliente por convección, se observan en la tabla 1, valores correspondientes a los parámetros de pH, °Brix, densidad y cantidad de agua evaporada por la diferencia de peso. El pH del jugo de mandarina y el líquido de impregnación (jugo de mandarina enriquecido con probiótico) se incrementó ligeramente de 3.5 a 5.5; con respecto a los grados Brix de los líquidos se observa una disminución en aproximadamente un grado, en tanto que la densidad aparente aumenta de 1.058 a 1.082  $\text{Kg/m}^3$ , variaciones que se debe a la actividad biológica del microorganismo, ya que los sólidos solubles del sustrato son metabolizados por los microorganismo probióticos para su desarrollo y reproducción. Las manzanas presentaron un pH ácido en los dos procedimientos aplicado y se determinó la reducción de la cantidad de agua en la muestra por (IV) y (SAC).

Durante la operación de impregnación al vacío y la generación del mecanismo hidrodinámico entre las fases del sistema, la presencia de microorganismos probióticos en el jugo de mandarina tuvo un efecto positivo en la transferencia de masa, determinando

**Addition of probiotic (*Lactobacillus salivarius* spp. *Salivarius*) in apple var. Granny Smith (*Malus domestica* X *M. sylvestris*) by vacuum impregnation technique and hot air convection drying**

una variación media de la masa neta de las muestras de manzana impregnadas ( $\Delta$ MIV) del 10.5%, debido a la incorporación de probiótico a la matriz. La determinación de la porosidad de la muestra ( $\epsilon$   $0.203 \pm 0.008$ , ver tabla 2), se realizó bajo la consideración de que en el proceso de impregnación la deformación en la etapa de vacío es despreciable y que no hubo deformación en la etapa a presión atmosférica. El valor obtenido indica la disponibilidad de los espacios intercelulares para la incorporación del líquido de impregnación enriquecido con probiótico.

**TABLA 1**

Parámetros físico-químicos del jugo de mandarina, líquido de impregnación, manzana fresca y manzana (SAC) media y desviación estándar.

	pH	°Brix	Densidad aparente (Kg/m <sup>3</sup> )	Densidad real (Kg/m <sup>3</sup> )	X <sub>w</sub>
Jugo de mandarina	(3.5 $\pm 1.41$ )	(12.5 $\pm 0.71$ )	(1.05 8 $\pm 16.9$ )		-
Líquido de impregnación	(5.5 $\pm 1.41$ )	(11.5 $\pm 0.71$ )	(1.08 2 $\pm 16.9$ )		-
Manzana fresca	(3.1 $\pm 0.21$ )	(12.6 $\pm 1.13$ )	(0.84 0 $\pm$ 21)	1.054 $\pm 1.9$ )	(0.826 $\pm 0.44$ )
Manzana (SAC)	(3.4 $\pm 0.21$ )	(11.0 $\pm 1.13$ )	-		(0.202 $\pm 0.44$ )

En la tabla 2, la manzana obtenida mediante Impregnación al Vacío (IV) con jugo de mandarina enriquecido con probiótico presenta una media de concentración de microorganismos de (3.07  $\pm$  2.20)  $\times 10^8$  UFC por cada gramo de manzana (IV), que al compararlo con la referencia reportada en un estudio previo de Betoret, 2012 (2.754  $\pm$  0.012)  $\times 10^8$  UFC.g<sup>-1</sup>, la manzana impregnada, presenta similitud en los valores por lo tanto podría ser consideradas como láminas de manzana enriquecida con probiótico. Con respecto a las muestras de manzana impregnada

que fueron sometidas al procedimiento de secado con aire caliente por convección, la concentración de microorganismos fue de  $(1.58 \pm 1.03) \times 10^4$  UFC por gramo de manzana seca (SAC), valor que es inferior a lo reportado en la referencia  $(9.5 \pm 0.2) \times 10^7$  UFC.g<sup>-1</sup>, variación que está directamente relacionado con el control de variables como tiempo de secado, temperatura del horno y velocidad del aire.

**TABLA 2**

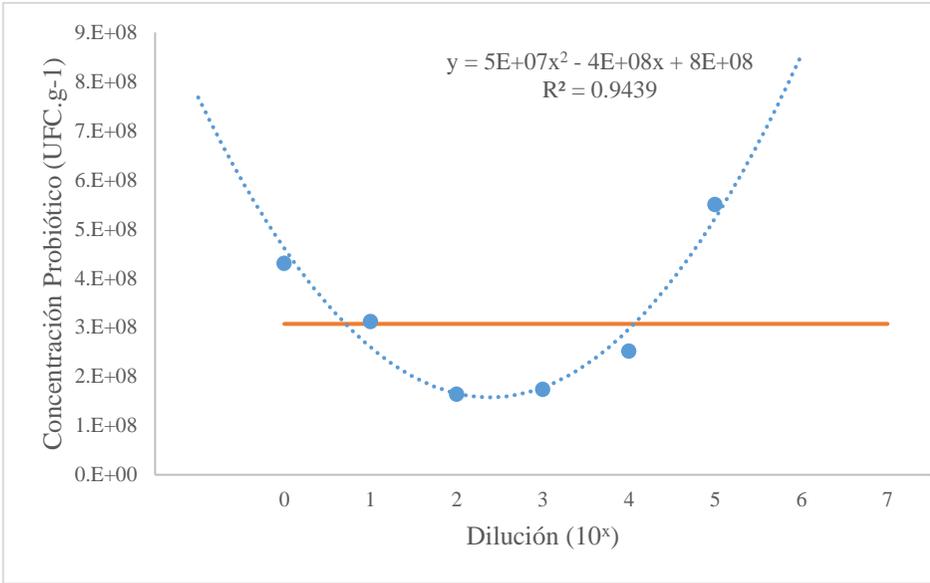
Media y desviación estándar de la concentración del probiótico en jugo de mandarina y láminas de manzana impregnada al vacío y secado con aire caliente por convección.

	CONCENTRACIÓN DE MICROORGANISMOS	
	Experimental (media ± sd)	Teórico (media ± sd)
$\Delta M_{IV}$ (g)	$(0,1052 \pm 0,0096)$	
$\epsilon$ (m <sup>3</sup> /m <sup>3</sup> muestra)	$(0.203 \pm 0.008)$	
Líquido de impregnación (UFC/ml)	$(3.18 \pm 0.807) \times 10^8$	$(2.754 \pm 0.012) \times 10^8$
Manzana IV (UFC.g <sup>-1</sup> )	$(3.07 \pm 2.20) \times 10^8$	$(1.51 \pm 0.07) \times 10^8$
Manzana SAC (UFC.g <sup>-1</sup> )	$(1.58 \pm 1.03) \times 10^4$	$(9.5 \pm 0.2) \times 10^7$

En el análisis de varianza, se observa diferencias significativas entre la dilución ( $10^x$ ) y la concentración de probiotico (UFC.g<sup>-1</sup>) en manzanas impregnadas al vacío (IV), es decir que aun con diluciones muy altas si se puede lograr un concentración positiva del probiotico, además se estableció un ajuste del modelo con una regresión cuadrática lo cual dio como resultado un coeficiente de determinación ( $R^2= 0.94$ ), en la figura 1, se observa que indistintamente de la dilución se obtuvieron altas concentraciones del probiotico.

**Addition of probiotic (*Lactobacillus salivarius* spp. *Salivarius*) in apple var. Granny Smith (*Malus domestica* X *M. sylvestris*) by vacuum impregnation technique and hot air convection drying**

	f	D	Sum	Mean	F	Pr(>F)
		Sq	Sq	Sq	value	)
dilucio n.10 <sup>x</sup>	1	1.6356 e+16	1.6356 e+16	1.6356 e+16	11. 729	0.041 6977 *
I(diluci on^2)	1	2.3936 e+17	2.3936 e+17	2.3936 e+17	171 .649	0.000 9605 ***
Residu als	3	4.1834 e+15	4.1834 e+15	1.3945 e+15		

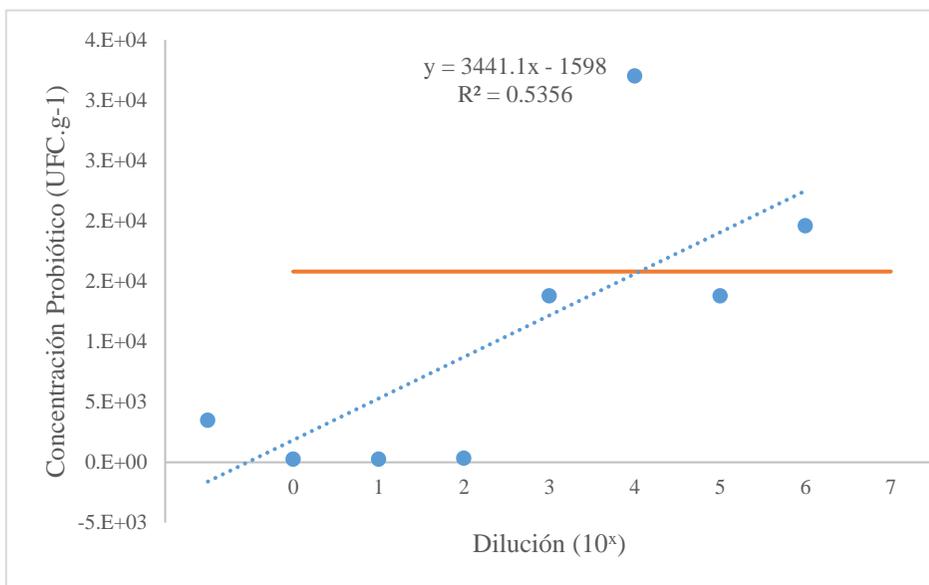


**Fig1.** Concentración del Probiótico (*Lactobacillus salivarius* spp. *salivarius*) en muestras de manzana impregnada al vacío (IV).

Con respecto al análisis de la tabla de varianza de las manzanas secadas con aire caliente (SAC) se aplicó una regresión lineal,

observándose diferencias significativas entre la dilución ( $10^x$ ) y la concentración de probiótico ( $\text{UFC}\cdot\text{g}^{-1}$ ), a pesar de que existe un ajuste lineal de los datos, el coeficiente de determinación ( $R^2=0.53$ ) presenta un valor muy bajo, en la figura 2, se observa que la mayor parte de mediciones de la concentración del probiótico se encuentra por debajo del valor promedio, por lo tanto la aplicación del secado si influye en la conservación del probiótico.

	f	D	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(> F)
dilucio	1		49733	49733	6.9	0.03
n.10 <sup>x</sup>			1171	1171	189	904 *
Residua	6		43128	71880		
ls			2461	410		



**Fig 2.** Concentración del Probiótico (*Lactobacillus salivarius* spp. *salivarius*) en muestras de manzana impregnada al vacío y secadas con aire caliente (SAC).

## **Conclusiones**

Actualmente los alimentos enriquecidos con probióticos, son considerados alimentos funcionales que contribuyen en el buen funcionamiento del sistema digestivo, para el presente estudio se utilizó una cepa de *Lactobacillus salivarius* spp. *salivarius*, microorganismo que beneficia a la flora intestinal y presenta cierta tolerancia a las altas presiones (impregnación al vacío) y a los tratamientos térmicos (secado con aire caliente por convección).

Se determinó la influencia de la técnica de impregnación a vacío y la aplicación secado con aire caliente por convección en manzana var. *Granny Smith* (*Malus domestica* X *M. sylvestris*) para la incorporación de probiótico y la aplicación de secado con aire caliente como método de preservación de microorganismos, se midieron los parámetros físico-químicos indicados del jugo de mandarina, líquido de impregnación enriquecido y láminas de manzana (IV y SAC) observándose ligeras variaciones debido a la actividad metabólica del microorganismo.

La técnica de impregnación al vacío para *Lactobacillus salivarius* spp. *salivarius*, se aplicó de forma efectiva analizando los valores de  $\Delta MIV$  y la porosidad ( $\epsilon$ ) de las muestras de manzana, se estableció diferencias significativas según el análisis de varianza, y la aplicación de regresión lineal, definiendo el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) por cada técnica aplicada. Se determinó una concentración del probiótico en manzana (IV) de  $3.07 \times 10^8$  UFC.g<sup>-1</sup> valores requeridos para lograr un efecto beneficioso en el producto y ser descrito como un alimento funcional, en tanto que con el procedimiento de secado con aire caliente por convección de las muestras de manzana se observó una disminución en la concentración media del probiótico después del tratamiento térmico ( $1.58 \pm 1.03$ )  $\times 10^4$  UFC.g<sup>-1</sup>, valores que están en función de las condiciones de trabajo: tiempo de exposición, temperatura, circulación del aire, velocidad y humedad variables que deben ser analizadas con el fin de optimizar el método.

## **Referencias**

- Alva, H., Cruz, E. B., Sánchez, J. C., Huaccha, K., & Rojas, S. (2014). Optimización de humedad y textura en snacks de manzana, evaluando espesor y temperatura de secado. *Agroindustrial Science*, 3(2), 91-100.
- Alzamora, S. M., Salvatori, D., Tapia, M. S., López-Malo, A., Welti-Chanes, J., & Fito, P. (2005). Novel functional foods from vegetable matrices impregnated with biologically active compounds. *Journal of Food Engineering*, 67(1-2), 205-214.
- Barrera, C., Betoret, N., & Fito, P. (2004). Ca<sup>2+</sup> and Fe<sup>2+</sup> influence on the osmotic dehydration kinetics of apple slices (var. Granny Smith). *Journal of Food Engineering*, 65(1), 9-14.
- Betoret, N. (2002). Aplicación de algunas técnicas de ingeniería de alimentos en el desarrollo de alimentos naturales enriquecidos. Universidad Politécnica de Valencia. Tesis Doctoral.
- Betoret, N., Puente, L., Díaz, M.J., Pagán, M.J., García, M.J., Gras, M.L., Martínez-Monzó, J. y Fito, P. (2003). Development of probiotic-enriched dried fruits by vacuum impregnation. *Journal of Food Engineering*, 56(2-3): 273-277.
- Betoret, E., Betoret, N., Arilla, A., Bennár, M., Barrera, C., Codoñer, P., & Fito, P. (2012). No invasive methodology to produce a probiotic low humid apple snack with potential effect against *Helicobacter pylori*. *Journal of Food Engineering*, 110(2), 289-293.
- Brito, C. (2009). Revaloración de la funcionalidad fisiológica de la leche y los lácteos. Estudios de optimización. *Agro sur*, 37(2), 71-80.
- Collins, M. D., y Gibson, G. R. (1999). Probiotics, prebiotics, and symbiotic: Approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *American Society for Clinical Nutrition*, 69(5), 1052-1057.
- FAO/WHO. (2002). Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Joint FAO/WHO Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food London,

***Addition of probiotic (Lactobacillus salivarius spp. Salivarius) in apple var. Granny Smith (Malus domestica X M. sylvestris) by vacuum impregnation technique and hot air convection drying***

Ontario, Canada, April 30 and May 1, 2002  
[https://www.who.int/foodsafety/fs\\_management/en/probiotic\\_guidelines.pdf](https://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf).

- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., ... & Calder, P. C. (2014). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, 11(8), 506.
- Guarner, F., Khan, A. G., Garisch, J., Eliakim, R., Gangl, A., Thomson, A., ... & Fedorak, R. (2011). Probióticos y prebióticos. *Guía Práctica de la Organización Mundial de Gastroenterología: Probióticos y prebióticos*, 1-29.
- Ostos, S. L., Díaz, A. C., & Suarez, H. (2012). Evaluación de diferentes condiciones de proceso en la fortificación de mango (Tommy Atkins) con calcio mediante impregnación a vacío. *Revista chilena de nutrición*, 39(2), 181-190.
- Otto F. Von Feigenblatt. 2012. Integración de la teoría y la práctica en educación de negocios. *Revista de Comunicación Vivat Academia*. (123) 94-99p.
- Patente P99 02730-5 titulada " Procedimiento de impregnación de alimentos naturales con productos nutracéuticos y dispositivo para su puesta en práctica ".
- Puente, L., Lastreto, S., Mosqueda, M. J., Saavedra, J., & Cordova, A. (2010). Influencia de un pretratamiento osmótico sobre la deshidratación por aire caliente de manzana granny smith. *Dyna*, 77(164), 274-283.
- Stephen, A. M. (2000). Aspectos normativos de los productos funcionales. In *Alimentos funcionales: aspectos bioquímicos y de procesos* (pp. 401-440). Acribia.
- Szajewska, H., & Mrukowicz, J. Z. (2001). Probiotics in the treatment and prevention of acute infectious diarrhea in infants and children: a systematic review of published randomized, double-blind, placebo-controlled trials. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 33, S17-S25.

Villanueva-Flores, R. (2015). Probióticos: una alternativa para la industria de alimentos. *Ingeniería Industrial*, (033), 265-275.

***Addition of probiotic (Lactobacillus salivarius spp. Salivarius) in apple var. Granny Smith (Malus domestica X M. sylvestris) by vacuum impregnation technique and hot air convection drying***