

2022-08

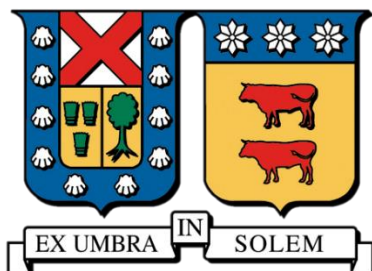
Efecto del uso de ventana refractiva en la retención de probióticos impregnados en láminas de manzana deshidratada

Contreras Minte, Natalia Carolina

<https://hdl.handle.net/11673/54045>

Repositorio Digital USM, UNIVERSIDAD TECNICA FEDERICO SANTA MARIA

UNIVERSIDAD TÉCNICA FEDERICO SANTA MARÍA
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y AMBIENTAL
VALPARAISO-CHILE



EFFECTO DEL USO DE VENTANA REFRACTIVA EN LA RETENCIÓN DE PROBIÓTICOS IMPREGNADOS EN LÁMINAS DE MANZANA DESHIDRATADA

Natalia Carolina Contreras Minte

**MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE
INGENIERA CIVIL QUÍMICA**

PROFESOR GUIA: M Cs. HELENA NÚÑEZ A.

PROFESOR CO-REFERENTE: Dr. CRISTIAN RAMÍREZ B.

PROFESOR CO-REFERENTE: Dr. SERGIO ALMONACID M.

VALPARAÍSO, agosto de 2022

RESUMEN

Las frutas y verduras aportan múltiples beneficios para el ser humano y, si se enriquecen con componentes bioactivos, ayudan a nivel cardiovascular, digestivo y al sistema inmune. En Chile el consumo de ellas es deficiente.

El objetivo de esta memoria es el desarrollo de un snack de manzana funcional con probióticos deshidratado en ventana refractiva. Para ello, láminas de manzana de 40 mm de diámetro y 3 mm de espesor se impregnaron de una solución con *Lactobacillus rhamnosus*, y se secaron mediante las técnicas de secado de ventana refractiva (VR) o secado convencional (SC) a 45°C hasta alcanzar una actividad de agua igual o menor a 0.4. Durante el secado se midió la humedad del producto que se usa para determinar el coeficiente de difusión efectivo (D_{eff}) a partir la 2° ley de Fick y el modelo de difusión anómala. También se midieron las diferencias de color (ΔE), sólidos solubles, textura y actividad de agua (A_w). El producto deshidratado se almacenó por 28 días a 4°C y 25°C y se determinó la viabilidad celular durante ese periodo.

A partir de los resultados se observó que la inoculación con probióticos fue de 10^9 UFC/mL , la población retenida en las rodajas deshidratadas fue del orden de 10^8 UFC/mL , la supervivencia de los microorganismos a los 28 días a 4°C, y a los 14 días a 25°C fue del orden 10^7 UFC/g , no presentando recuento de colonias en el almacenamiento a 25°C en el periodo posterior al mencionado. Las muestras impregnadas y secadas en VR obtuvieron valores significativamente mayores de dureza y significativamente menores de diferencia de color (20.66 N/mm y 8.43 respectivamente) que en SC (1.37 N/mm y 11.59 respectivamente) ($P < 0.05$). Respecto al proceso de difusión, el modelo de difusión anómalo se ajusta mejor al fenómeno y, se observó que las muestras con probióticos y secadas en VR presentaron significativamente mayor coeficiente de difusión efectivo en comparación al SC ($6.850 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}^{1,28}$ y $4.097 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}^{1,35}$ respectivamente) ($P < 0.05$).

Se concluye que el secado en ventana refractiva es una técnica que permite mejores resultados en cuanto a sólidos solubles, humedad, diferencia de color y retención de probióticos en comparación del secado convencional. Se recomienda avanzar en la investigación considerando el efecto de rehidratación del snack en el envase y el tipo de sellado aplicado durante el almacenamiento, mejorar la aceptabilidad del producto mediante el uso de jugo comercial como conductor de los probióticos y analizar el efecto térmico de los secados en las propiedades bioactivas del snack.

ABSTRACT

Fruits and vegetables contribute multiples benefits for human beings and, if they are enriched with bioactive components, they help on a cardiovascular level, digestive level and immune system. In Chile the consumption of fruits and vegetables is deficient.

The aim of this study is the development of a functional apple snack dehydrated with probiotics by refractance window. To do that, cylindrical apple slices of 40x3 mm were immersed in a *Lactobacillus Rhamnosus* solution and dried by refractance window (VR) or oven drying (SC) at 45 °C until water activity of 0.4 or below were reached. During drying the moisture content was measured and used to determine the effective diffusivity (D_{eff}) through the Fick's model and the anomalous model. Also measured are color changes (ΔE), soluble solids, texture, and water activity (Aw). The dehydrated product was stored for 28 days at 4 °C and 25 °C to measure the cell viability during the period.

It was observed from the results that the probiotics inoculation level was $10^9 CFU/mL$, a maintain population in dehydrated slices was $10^8 CFU/mL$, the survival of microorganisms after 28 days at 4 °C and 14 days at 25 °C reached $10^7 UFC/g$, and no colonies enumerated of the storage at 25 °C after the period mentioned before. Impregnated and dried samples by VR shown significantly higher values of hardness and significantly less color changes (20.66 N/mm y 8.43, respectively) than SC (1.37 N/mm y 11.59, respectively) ($P < 0.05$). For the diffusion process, the anomalous model was fitted better, and observed that probiotic apple slices dried by VR had a significantly minor effective diffusivity compared to SC ($6.850 \cdot 10^{-10} m^2/s^{1,28}$ y $4.097 \cdot 10^{-11} m^2/s^{1,35}$ respectively) ($P < 0.05$).

It is concluded that VR drying technique allows better results on soluble solids, moisture content, color changes and survival of probiotics compared to oven drying.

It is recommended that further investigation to consider the effect of the snack rehydration in the container and the kind of sealed applied during storage period, to improve the acceptability of the product by using commercial juice as a carrier of the microorganisms, and to analyze the thermic effect of drying techniques on the snack's bioactive properties.

Agradecimientos

Quiero agradecer el apoyo y contención de mi madre Viola Minte y hermana Estefanía Contreras durante todos estos años de esfuerzo, dedicación y sacrificio mientras estudiaba en la universidad, sin ellas no habría llegado donde estoy. Cada palabra de aliento y consejo fueron las que me impulsaron a seguir adelante cada día a pesar de todos los obstáculos que se presentaran y cada momento de felicidad y celebración por cada pequeño logro conseguido hacían que me motivara a continuar este camino.

También agradezco a mi padre Oscar Contreras y sus hermanos Carlos y Román Contreras por acompañarme y aconsejarme en el proceso universitario, a mi abuela María Bernarda Dornemann por estar conmigo, preocuparse y regalarme cada vez que la visité para desconectarme de todo. Y a mi abuelo Oscar Contreras que, aunque ya no esté con nosotros, siempre lo recordaré por inculcarme desde pequeña que era capaz de todo lo que me proponga.

A mis compañeros de universidad Karyn, Graciela, Paula y Felipe, por todas las risas, momentos de felicidad, dificultad y apoyo mutuo en las jornadas de estudio, a veces largas pero que en compañía de ellos se hacía mucho más ameno.

Además de quienes me acompañaron durante la fase de experimentación en la memoria, hicieron que los días fueran más agradables y llevaderos con el buen ambiente generado y sentido del humor de cada uno. Y todos a quienes conocí en esta etapa tan especial.

Igualmente quiero agradecer a los profesores Helena Núñez y Cristián Ramírez por toda la ayuda durante este periodo de experimentos, búsqueda bibliográfica, análisis de datos, etc., siempre tuvieron buena disposición para ayudarme. Al profesor Ricardo Simpson por sus palabras de ánimo cuando nos encontraba trabajando y al profesor Sergio Almonacid por aceptar tomar el lugar del profesor Ricardo como profesor co-referente.

Finalmente, agradezco al proyecto FONDECYT N°1181270 por el financiamiento otorgado para el desarrollo de la investigación.

1 INTRODUCCIÓN

En Chile el consumo de frutas y hortalizas está muy por debajo (200 g/día) de lo recomendado (400 g/día) (Vio, Isabel, & Daniela , 2008), frutas como la manzana tienen un consumo de 7 a 9 kg/per cápita/año, muy por debajo del promedio en Europa (20 kg/per cápita/año) (Palomo G., Yuri S., Moore-Carrasco, Quilodrán P., & Neira E., 2010).

Una de las características beneficiosas de la manzana para la salud es su actividad antioxidante, la que se debe fundamentalmente a su contenido en fenoles y flavonoides, estos disminuyen el riesgo cardiovascular y tiene un efecto protector reduciendo el riesgo de desarrollar algunos tipos de cáncer (Ezzati, Lopez, Rodgers, & Murray, 2004).

Por ello se ha fomentado el consumo de esta fruta en diferentes formatos, como fruta fresca, jugo o deshidratada. Chile es el cuarto mayor exportador de manzana fresca y el principal exportador de manzanas deshidratadas en el mundo, haciendo este último un área atractiva para desarrollar (Trade Map, 2020).

El procesamiento de manzanas, para la preparación de jugos o productos deshidratados, provoca una significativa baja tanto en el contenido fenólico, como en su actividad antioxidante. Un estudio realizado con piel de manzana Fuji deshidratada demostró que durante el proceso se pierde alrededor de un 45% de la actividad antioxidante (Palomo G., Yuri S., Moore-Carrasco, Quilodrán P., & Neira E., 2010).

El desarrollo de alimentos que promueven la salud y el bienestar favorecen el mercado de los alimentos enriquecidos con componentes fisiológicamente activos como los probióticos, estas bacterias tienen un efecto beneficioso en la salud intestinal, la disminución del colesterol en la sangre y el mejoramiento de los mecanismos de defensa naturales del cuerpo humano (Palomo G., Yuri S., Moore-Carrasco, Quilodrán P., & Neira E., 2010). La cepa Rhamnosus en específico mejora la salud en el tracto intestinal, siendo tratamiento para trastornos gastrointestinales. Los productos probióticos deben tener una cantidad de microorganismo superior a 10^6 CFU/g (Capurso, 2019).

Una forma eficiente para incorporar compuestos de interés disueltos en una solución a un sólido poroso es mediante la impregnación al vacío, este método consiste en sumergir el producto en la solución a baja presión y así expandir el gas presente en los poros del alimento para que salga, y luego al restituir la presión atmosférica, el producto se comprime favoreciendo la penetración del líquido exterior en los poros (Fito, Chiralt, & Pardo, 1996), se ha utilizado este método en frutas con

presiones de vacío desde 50 mbar hasta 150 mbar durante 5 a 15 min y luego al recuperar la presión atmosférica por otros 5 a 10 min (Betoret, y otros, 2003) (Zura-Bravo, y otros, 2019).

La deshidratación es considerada como uno de los principales métodos de conservación debido a que impide que los productos sean fácilmente susceptibles a la descomposición microbiana y reacciones enzimáticas indeseables. El secado convencional es el que más se utiliza en la industria y consiste en la remoción de humedad del alimento mediante el paso de una corriente de aire caliente, a pesar de ser una tecnología sencilla tiene un efecto negativo en la calidad del producto, la eficiencia del proceso, además de requerir largos tiempos de procesamiento (Raghavi, Moses, & Anandharamakrishnan, 2018).

Como los consumidores potenciales buscan productos de alta calidad y bajo costo, el secado en ventana refractiva, patentado por MCD Technologies, Inc. (Washington, E.E.U.U) en 1986, es atractivo de desarrollar ya que permite conservar las características como el color, aroma, sabor y contenido nutricional mucho mejor que otros métodos (Waghmare, 2021), esto puede deberse a que el calor transferido desde el agua a la superficie del producto por las ondas infrarrojas disminuyen los cambios de las propiedades de calidad (Jafari, Azizi, Mirzaei, & Dehnad, 2016).

Objetivo general:

Desarrollo de un snack de manzana funcional con probióticos deshidratado en ventana refractiva.

Objetivos específicos:

- Diseñar las condiciones de operación para la impregnación a vacío de probióticos en láminas de manzana.
- Determinar el tiempo de secado en secado convencional (SC) y ventana refractiva (VR) requerido para alcanzar una actividad de agua igual o menor a 0.4.
- Determinar el coeficiente de difusión efectivo (D_{eff}) mediante modelación basada en la segunda ley de Fick y de difusión anómala.
- Comparar las propiedades de calidad, textura y color de las muestras deshidratadas.
- Estudiar el efecto del secado convencional (SC) y ventana refractiva (VR) en la retención de los probióticos en las rodajas de manzana deshidratada durante 28 días de almacenamiento a dos temperaturas.

ÍNDICE

RESUMEN	2
Agradecimientos	4
1 INTRODUCCIÓN	5
ÍNDICE.....	7
2 ÍNDICE DE FIGURAS	9
3 ÍNDICE DE TABLAS	10
4 ANTECEDENTES TEÓRICOS.....	11
4.1 MATERIA PRIMA.....	11
4.2 ALIMENTOS FUNCIONALES	13
4.3 COMPUESTOS CON PROPIEDADES FUNCIONALES: PROBIOTICOS.....	14
4.4 TECNOLOGÍAS DE ENRIQUECIMIENTO: IMPREGNACIÓN A VACÍO	16
4.5 DESHIDRATACIÓN DE ALIMENTOS	17
4.6 SECADO CONVENCIONAL MEDIANTE ESTUFA CONVECTIVA	19
4.7 SECADO EN VENTANA REFRACTIVA	20
4.8 PROCESOS DE DIFUSIÓN	22
5 MATERIALES	25
5.1 MATERIA PRIMA.....	25
5.2 SOLUCIÓN DE IMPREGNACIÓN.	25
5.3 TRATAMIENTO DE IMPREGNACIÓN	26
5.4 SECADO CONVENCIONAL (CONTROL)	27
5.5 SECADO EN VENTANA REFRACTIVA	27
6 MÉTODOS.....	28
6.1 RECUENTO PROBIÓTICO.....	28
6.2 ANÁLISIS DE IMÁGENES POR MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA POR BARRIDO (SEM).	30
6.3 CONSUMO ENERGÉTICO.	30
6.4 CINETICA DE INACTIVACION DE PROBIÓTICOS.	30
6.5 ACTIVIDAD DE AGUA.	31
6.6 HUMEDAD.	31
6.7 DETERMINACIÓN DE COEFICIENTES DE DIFUSIÓN.	32
6.8 SÓLIDOS SOLUBLES.	32
6.9 COLOR.	33

6.10	TEXTURA.....	34
6.11	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	35
7	RESULTADOS	36
7.1	RECuento PROBIÓTICO.....	36
7.2	ANÁLISIS DE IMÁGENES POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA POR BARRIDO (SEM).	38
7.3	CONSUMO ENERGÉTICO.	39
7.4	CINÉTICA DE INACTIVACIÓN DE PROBIÓTICOS.	40
7.5	ACTIVIDAD DE AGUA.	40
7.6	HUMEDAD.	41
7.7	DETERMINACIÓN DE COEFICIENTES DE DIFUSIÓN.	42
7.8	SÓLIDOS SOLUBLES.	45
7.9	COLOR.	46
7.10	TEXTURA.....	47
8	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	49
	REFERENCIAS.....	50
9	ANEXOS.	56
9.1	Anexo 1. Recuento celular mediante Escala de Mc Farland.	56
9.2	Anexo 2. Resultados de actividad de agua.....	57
9.3	Anexo 3. Resultados de humedad.....	57
9.4	Anexo 4. Resultados de sólidos solubles.....	57
9.5	Anexo 5. Mediciones experimentales.....	58

2 ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Manzana Granny Smith.	11
Figura 2. Micrografía electrónica de barrido de un tejido de manzana donde se señala un espacio intercelular. Elaboración propia.	12
Figura 3. Participación chilena en el mercado de exportación de manzanas deshidratadas en el mundo (%). Fuente: Elaboración propia, datos obtenidos de (Trade Map, 2020).	12
Figura 4. Lactobacillus Rhamnosus. Obtenido de (Galego, 2019).....	14
Figura 5. Etapas del proceso de transferencia de materia entre los poros (ideales, de color blanco) del alimento inmerso (verde) en un líquido (amarillo) a condiciones de vacío. Adaptado de (Fito P. , 1994)	17
Figura 6. Curvas de humedad más utilizadas. Obtenido de (Perry, Green, & Maloney, 2001).	19
Figura 7. Partes de una estufa convectiva. Obtenido de (Memmert GmbH + Co. KG, 2009).....	20
Figura 8. Diagrama esquemático de un sistema de secado por ventana refractiva. Obtenido de (Raghavi, Moses, & Anandharamakrishnan, 2018)	21
Figura 9. Preparación de las rodajas de manzana con el diámetro y espesor deseado.	25
Figura 10. Preparación de las rodajas impregnadas.	26
Figura 11. Rodajas de manzana impregnadas con Lactobacillus Rhamnosus a vacío.	27
Figura 12. Disposición de las muestras en el equipo y estufa utilizada.	27
Figura 13. Disposición de las muestras en equipo de ventana refractiva y esquema del sistema propuesto.	28
Figura 14. Escala Mc Farland realizada.	29
Figura 15. Recuento de microorganismos de manzana seca, dilución de las placas de la imagen de 10^{-7}	30
Figura 16. Medidor de actividad de agua.....	31
Figura 17. Distribución de las rodajas para medición de curva de humedad.	32
Figura 18. Preparación de muestras para medición de sólidos solubles y equipo utilizado.	33
Figura 19. Espacio de color CIELAB.	34
Figura 20. Equipo de medición de color.....	34
Figura 21. Texturómetro utilizado.....	35
Figura 22. Recuento probiótico en almacenamiento a 4°C UFC/g, n=3.....	36
Figura 23. Recuento probiótico en almacenamiento a 25°C UFC/g, n=3.....	37
Figura 24. Manzana impregnada (A), Manzana con probióticos en SC (B), Manzana con probióticos en VR (C), imagen aumentada x10000.....	38
Figura 25. Manzana impregnada (A), manzana con probióticos en SC (B), manzana con probióticos en VR (C), imagen aumentada x100.....	38
Figura 26. Ajuste de modelos para CSC (control secado convencional).	42
Figura 27. Ajuste de modelos para CVR (control en ventana refractiva).....	42
Figura 28. Ajuste de modelos para PSC (secado convencional con probióticos).....	43
Figura 29. Ajuste de modelos para PVR (secado en ventana refractiva con probióticos).	43
Figura 30. Muestra impregnada (MIP), y secada en ventana refractiva (VRP) o en estufa (SCP).....	46
Figura 31. Curva de calibración basada en escala Mc Farland para recuento de microorganismos en caldo MRS.....	56

3 ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Comparación de consumo energético y eficiencia en distintas técnicas de secado (Fuente: (Raghavi, Moses, & Anandharamakrishnan, 2018)).....	22
Tabla 2. Consumo de energía de cada tecnología de secado.	39
Tabla 3. Valores de k por tipo de secado y temperatura de almacenamiento.	40
Tabla 4. Resultados de coeficiente de difusión según Ley de Fick.....	44
Tabla 5. Resultados de coeficiente de difusión y el parámetro alpha según el modelo de difusión anómalo.	44
Tabla 6. Resultados de color por tipo de muestra.	46
Tabla 7. Resultados de dureza por tipo de muestra.	47
Tabla 8. Escala Mc Farland.	56
Tabla 9. Resultados de actividad de agua por tipo de muestra.	57
Tabla 10. Resultados de humedad por tipo de muestra.	57
Tabla 11. Resultados de sólidos solubles por tipo de muestra.	57
Tabla 12. Datos experimentales de color (L^* , a^* , b^*) por tipo de muestra.....	58
Tabla 13. Datos experimentales de color (L^* , a^* , b^*) de secado en ventana refractiva con probióticos.	60
Tabla 14. Datos experimentales de color (L^* , a^* , b^*) de secado convencional con probióticos.	60
Tabla 15. Datos experimentales de humedad por tipo de muestra.	61
Tabla 16. Datos experimentales de sólidos solubles por tipo de muestra.	61
Tabla 17. Datos experimentales de Actividad de agua (A_w) para cada tipo de muestra.	62
Tabla 18. Datos experimentales de dureza por tipo de muestra.....	62
Tabla 19. Datos experimentales de recuento probiótico en almacenamiento por tipo de secado .	63
Tabla 20. Datos experimentales curvas de humedad CSC	63
Tabla 21. Datos experimentales curvas de humedad CVR.....	64
Tabla 22. Datos experimentales curvas de humedad PSC.	64
Tabla 23. Datos experimentales curvas de humedad PVR.....	64

4 ANTECEDENTES TEÓRICOS

4.1 MATERIA PRIMA

La manzana verde de *tipo Granny Ramsey Smith* (Figura 1) es una variedad que se cree proviene de la hibridación de las especies *Malus doméstica* y *M. Sylvestris*, que data de su conocimiento desde 1868 en Australia donde Maria Ann Smith Sherwood creó el primer injerto. Para el año 1935 se introdujo este alimento en el Reino Unido y en 1972 en Estados Unidos. Actualmente se ha difundido por Sudamérica, Sudáfrica, Nueva Zelanda, y costa oeste de Estados Unidos (hinktag Creative Services, 2021)

Esta especie posee gran concentración de vitaminas del grupo B y C, minerales como el fosforo, potasio y calcio, alto contenido en fibras y ricas en antioxidantes (La Vanguardia, 2022), es de textura suave, tierna, crujiente, firme, color blanco-verdoso claro, sabor ácido y no excesivamente azucarada, aroma muy suave y de muy buena tolerancia a la conservación en frio convencional (Red agraria, 2022)



Figura 1. Manzana Granny Smith.

Esta fruta es altamente porosa debido a la presencia de grandes espacios intercelulares (entre un 28 y 43% del espacio celular total en manzanas maduras) en la matriz ocupados por gases como se observa en la Figura 2 y tiene una gran disponibilidad a lo largo de todo el año (Trakoontakorn, Patterson, & Swanson, 1988).

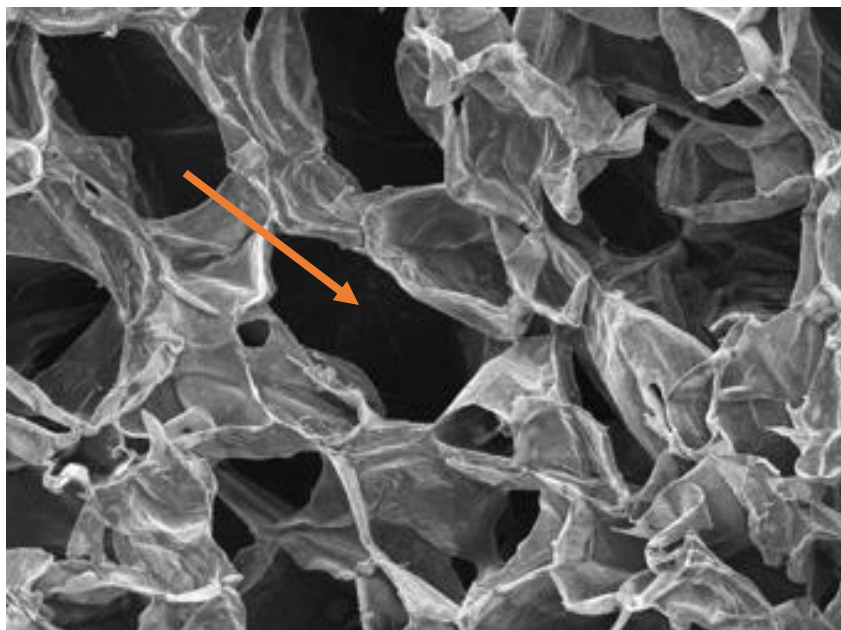


Figura 2. Micrografía electrónica de barrido de un tejido de manzana donde se señala un espacio intercelular.
Elaboración propia.

Chile también participa en el mercado mundial de esta fruta en formato de alimento deshidratado siendo el principal exportador de manzanas deshidratadas a nivel mundial alcanzando las 4815 t de ventas durante el 2019 (ver Figura 3). (Trade Map, 2020)

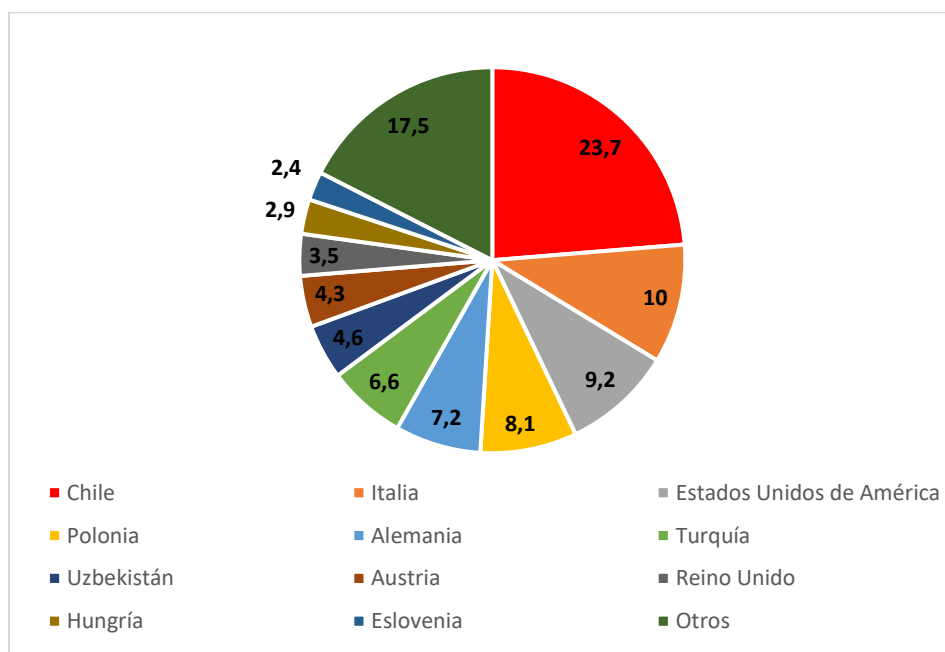


Figura 3. Participación chilena en el mercado de exportación de manzanas deshidratadas en el mundo (%).
Fuente: Elaboración propia, datos obtenidos de (Trade Map, 2020).

4.2 ALIMENTOS FUNCIONALES

El mercado de los alimentos funcionales cada día tiene mayor protagonismo por ende las nuevas líneas de investigación y tendencias de marketing apuntan en este sentido, durante los últimos 20 años los hábitos alimenticios de las personas han variado, ya no sólo se trata de cubrir necesidades y evitar alimentos perjudiciales, sino también buscar alimentos que tengan beneficios extras en la salud y ayuden a la prevención de enfermedades.

Los alimentos funcionales se refieren a un grupo de productos intermedios entre los alimentos tradicionales y los medicamentos, en forma natural o procesada que además de sus componentes nutritivos contienen componentes adicionales que pueden favorecer la salud y/o prevenir enfermedades.

Actualmente, gran parte de los ingredientes bioactivos de los alimentos funcionales son fitoquímicos (de origen vegetal) aunque también existen componentes bioactivos de origen animal o microbiano, algunos ejemplos de ellos son la bebida láctea enriquecida con probióticos “uno” de Soprole y un pudín enriquecido con vitaminas A, D, E, K, C y complejo B llamado “Fit Jelly” de Activelab.

Estos productos pueden incidir favorablemente en varios grupos de enfermedades:

- Para la salud cardiovascular: se utilizan alimentos enriquecidos con fitoesteroles, proteínas de soja, ácidos grasos omega-3 o fibra soluble.
- Para la salud del sistema digestivo: el uso de probióticos, prebióticos (fibra soluble), fibra tradicional (insoluble).
- Para la salud de los huesos: introducción de calcio en zumos, leches, galletas, alimentos enriquecidos en vitaminas y minerales, fitoestrógenos.
- Para la mejora del sistema inmune: probióticos, alimentos ACE (enriquecidos en vitaminas A, C y E), extractos de plantas, alimentos enriquecidos de cinc, hierro y selenio. (Gimeno Creus, 2003)

4.3 COMPUESTOS CON PROPIEDADES FUNCIONALES: PROBIOTICOS

Hace más de un siglo, Elie Metchnikoff (científico ruso, premio Nobel, y profesor en el Instituto Pasteur en París) postuló que las bacterias ácido-lácticas (BAL) eran beneficiosas para la salud, y capaces de promover la longevidad. Hoy se han publicado más de 1500 ensayos sobre los beneficios de estas bacterias, aunque han sido estudios heterogéneos en relación con la o las cepas, los probióticos analizados, y las poblaciones incluidas, la evidencia acumulada respalda la opinión que los beneficios son mensurables en muchos parámetros (Galego, 2019).

Probiótico se define como bacterias que en determinadas cantidades entregan beneficios a la salud, entre los más conocidos se encuentran los lactobacillus que son utilizados para la fermentación de alimentos desde hace miles de años. El género *Lactobacillus* contiene más de 180 especies gram-positivas, son anaerobias facultativas o microaerófilos, con forma de bastoncillo (Figura 4), no producen esporas y abarcan una gran variedad de microorganismos que son parte del grupo bacteriano ácido láctico (bacterias capaces de convertir el azúcar en ácido láctico). En el cuerpo humano, se ubican en el sistema digestivo, urinario y genital.



Figura 4. *Lactobacillus Rhamnosus*. Obtenido de (Galego, 2019)

La cepa *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) fue la primera cepa perteneciente al género *Lactobacillus* en ser patentada en el año 1989 debido a que cumple con las 3 condiciones

previas esenciales para colonizar el intestino humano: habilidad de supervivencia y proliferación a pH de ácido gástrico, supervivencia y proliferación en un medio que contiene bilis, y adherirse a los enterocitos (células epiteliales que abundan en el intestino delgado).

Entre los beneficios del consumo de este tipo de microorganismos en el cuerpo humano se encuentran la normalización de la barrera mucosa al adherirse a la superficie mucosa, la estimulación de la actividad inmune, producción de proteínas beneficiosas para el tracto intestinal, tienen una influencia positiva en la actividad de las citoquinas (proteínas del sistema inmune), ayudan a tratar infecciones gastrointestinales y diarrea producida por la ingesta de antibióticos y ayudan a la tolerancia de alimentos alérgenos como leche de vaca, huevo, soya, trigo y ciertas frutas (Capurso, 2019).

En el mercado se presentan generalmente productos como leches fermentadas o yogurts como vehículos para llevar los probióticos al cuerpo humano. Las bebidas fermentadas son contribuyentes importantes en la dieta humana en muchos países debido a que es una tecnología de bajo costo que preserva los alimentos, mejora su valor nutricional y sus propiedades sensoriales, casi todas las bebidas fermentadas provienen de la leche de vaca (Brozek, y otros, 2022).

Estudios de EuroPrevall han señalado que existe un 23,6% de niños con alergia a la proteína de la leche de vaca no mediada por IgE (Schoemaker, y otros, 2015), la manifestación de esta alergia está acompañada de urticaria, prurito, angioedemas, rinoconjuntivitis, dificultad respiratoria, síntomas gastrointestinales y anafilaxia. La reacción es rápida, puede presentarse en minutos o hasta 2 horas después de la ingesta del alimento. En el caso de los infantes, la leche de vaca representa el 21% de muertes por anafilaxia (Brozek, y otros, 2022).

Por lo tanto, como resultado del aumento en la demanda de productos probióticos no lácteos debido a alergias alimentarias, además del estilo de vida vegano y su alto contenido de colesterol, el desarrollo de productos no lácteos transportadores de probióticos ha estado en consideración en los últimos años (Heenan, Adams, Hosken, & Fleet, 2004).

Se han intentado desarrollar varios alimentos probióticos como jugos fermentados con probióticos y frutas impregnadas y secadas, ejemplos de estas investigaciones son el desarrollo de manzana impregnada con jugo y leche con *S. cerevisiae* y *L. casei* (Betoret, y

otros, 2003), jugo de piña con *L. casei* (Costa, Fontenes, de Jesus, & Rodrigues, 2013) y jugo de zanahoria con cepas de bifidobacterias (Kun, Rezessy-Szabó, Nguyen, & Hoschke, 2008).

4.4 TECNOLOGÍAS DE ENRIQUECIMIENTO: IMPREGNACIÓN A VACÍO

La impregnación a vacío es una versión desarrollada de la tecnología de tratamiento osmótico utilizado para el enriquecimiento de matrices alimentarias, donde se elimina aire húmedo de la matriz y una parte o totalidad de la solución ingresa a través de los poros del alimento y se sustituye por la solución deseada.

El proceso ocurre en cuatro etapas como se muestra en la Figura 5, siendo la primera la inmersión del sólido en el líquido de impregnación a presión atmosférica (A), continuando con la aplicación de vacío al producto (B), luego se mantiene la presión de vacío por un tiempo determinado para remover la solución y gases propios del alimento contenidos en los poros del sólido (C y D) y finalmente al restaurar el sistema a la presión atmosférica se logra la impregnación de la solución de interés(E). Este proceso permite añadir componentes fisiológicamente activos o componentes nutraceuticos a la estructura del producto (Ashitha & Prince, 2018).

En la impregnación a vacío se involucran 3 fenómenos, la salida del gas, la deformación-relajación de la matriz y el ingreso de líquido. Todo esto se ve significativamente afectado por las características del material como la estructura (distribución de poros y su tamaño), tiempo de relajación de la matriz sólida, la velocidad de transporte del mecanismo hidrodinámico (depende de la estructura y viscosidad de la solución, a mayor viscosidad menor velocidad de transferencia del soluto), tamaño y forma de la muestra (Zhao & Jing, 2004).

Se ha desarrollado este proceso para impregnar jugo de manzana en rodajas de manzana a 50 mbar de vacío por 5 min (Contreras, Martín, Martínez-Navarrete, & Chiralt, 2005), impregnación de cloruro de calcio en manzanas a 55.33 kPa de vacío por 15 min (Ramírez, Troncoso, Muñoz, & Aguilera, 2011), impregnación de jugo de manzana con *L. Casei* en manzanas a 50 mbar de vacío por 10 min (Betoret, y otros, 2003) e impregnación de jugo de manzana con *L. Casei* en murta a 150 mbar por 15 min (Zura-Bravo, y otros, 2019). En todos los casos luego de la impregnación a vacío se restaura la presión atmosférica durante 5 a 10 min.

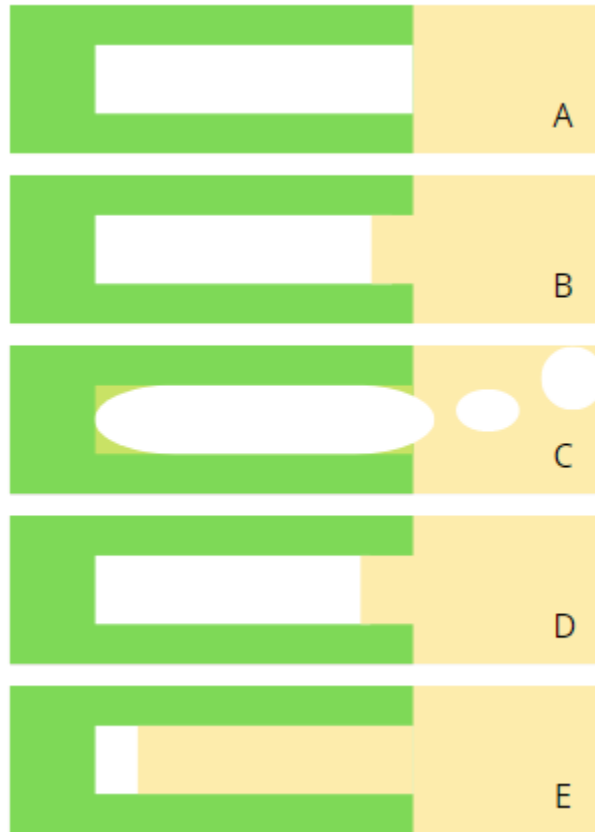


Figura 5. Etapas del proceso de transferencia de materia entre los poros (ideales, de color blanco) del alimento inmerso (verde) en un líquido (amarillo) a condiciones de vacío. Adaptado de (Fito P. , 1994)

4.5 DESHIDRATACIÓN DE ALIMENTOS

Los alimentos por naturaleza comienzan a deteriorarse desde el momento en que son cosechados creando la necesidad de preservarlos para su posterior uso, históricamente cada cultura ha demostrado poder preservar su comida usando los mismos métodos básicos de preservación, siendo uno de ellos el secado. Antiguamente el sol y viento permitían secar la comida naturalmente desde el año 12.000 A.C en el medio oriente y las culturas orientales, y en lugares donde no hubiera luz suficiente se utilizaba fuego. (Nummer, 2022)

Se entiende por deshidratación la remoción de humedad del producto a través de algún método de secado artificial para alargar su duración, pudiendo mejorar la palatabilidad, color, sabor y apariencia de este y a su vez facilitando su embalaje, manipulación y reduciendo los costos de transporte. (Jayas, 2016)

El deterioro de un alimento tiene una relación directa con el agua disponible en él ya que esta permite el crecimiento de bacterias, moho e insectos. Frutas y vegetales tienen un alto contenido de humedad, mayor al 80%, lo que los hace altamente susceptibles a deteriorarse por el desarrollo de bacterias. La deshidratación ayuda a preservar alimentos de forma segura y estable al reducir su actividad de agua, extendiendo su vida útil mucho más que en su condición fresca. (Maisnam, Rasane, Dey, Kaur, & Sarma, 2016).

La actividad de agua (A_w) es una forma de medir la cantidad de agua disponible para reacciones químicas y biológicas por lo que representa un indicador de estabilidad para el alimento con respecto al crecimiento microbiológico (Prosapio & Norton, 2017).

El secado de sólidos ocurre a través de dos procesos simultáneos: se transfiere calor para evaporar el líquido y se transfiere masa en forma de líquido o vapor dentro del sólido y como vapor desde la superficie.

Los secadores industriales se distinguen entre ellos principalmente por los métodos de transferencia de calor que utilizan, pudiendo ser por conducción, convección, radiación o una combinación de éstos, manteniendo en común que la transferencia de calor fluye hacia la superficie externa y luego al interior del sólido.

La masa se transfiere dentro del sólido durante el secado en forma de líquido o vapor y en las superficies externas como vapor. El movimiento de estas masas se debe a un gradiente de humedad (Perry, Green, & Maloney, 2001)

Los procesos de secado se clasifican según las condiciones físicas usadas para proporcionar calor y extraer vapor de agua:

- 1) Primera categoría: la transferencia de calor ocurre por contacto directo con aire caliente a presión atmosférica, y el vapor de agua formado se elimina por medio del mismo aire, este tipo de secado es utilizado para granos alimenticios y productos hortícolas.
- 2) Segunda categoría: el secado se realiza con vacío, existe una mayor evaporación de agua cuando se trabaja a presiones bajas, y el calor se añade indirectamente por contacto con una pared metálica o por radiación, se utiliza en general para lodos y pastas que se necesitan en forma de hojuelas y polvos.

- 3) Tercera categoría: Liofilización, donde el agua se sublima directamente del material congelado, dentro de esta categoría se encasilla también la deshidratación osmótica.
- 4) Cuarta categoría: debido al tipo de materia prima que pueden manejar y la retención de los atributos de calidad de los productos es que a esta categoría pertenecen los secados por microondas, infrarrojo, bomba de calor, radiofrecuencia y ventana refractiva (Chou & Chua, 2001)

La operación unitaria se puede describir como se observa en la figura 6, esta consta de un periodo en el que se calientan los sólidos o producto (A-B), luego un periodo en que la velocidad de secado se mantiene constante (B-C) y se produce después un decaimiento en la velocidad (C-D). En el punto C donde se produce el cambio de estas velocidades se encuentra la humedad crítica (Perry, Green, & Maloney, 2001).

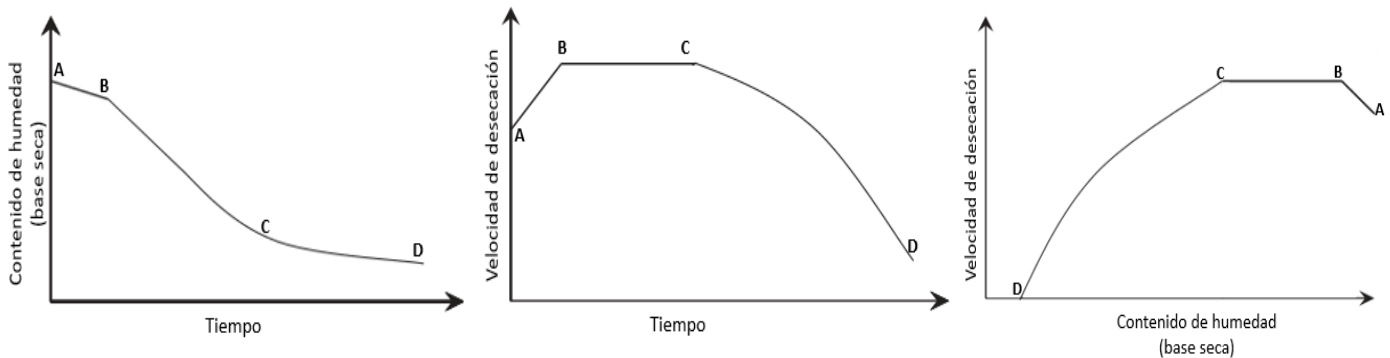


Figura 6. Curvas de humedad más utilizadas. Obtenido de (Perry, Green, & Maloney, 2001).

4.6 SECADO CONVENCIONAL MEDIANTE ESTUFA CONVECTIVA

El secado en estufa convectiva es un sistema de deshidratación por lotes y se encuentra asociado a las tecnologías de secado de primera categoría o generación, donde el principal mecanismo de transferencia de calor corresponde a la convección ocasionada por el flujo de aire en tránsito, el intercambio de masa y energía ocurre en la interfaz gas (aire)-sólido (alimento).

Su operación consiste en disponer el alimento en las bandejas con ranuras, que puede ser sólido como terrones o una pasta esparcida uniformemente en la bandeja y el aire caliente ingresa al equipo por medio del ventilador, está en contacto con el alimento y sale con

mayor contenido de humedad del sistema como se observa en la figura 7. Luego del secado, se abre la compuerta para retirar el material y ser reemplazado por más producto fresco. Esta tecnología se ha utilizado para el secado de varios productos como kiwi (Jafari, Azizi, Mirzaei, & Dehnad, 2016), pimentón rojo (Vega-Gálvez, y otros, 2009), salmón (Ortiz, y otros, 2013), manzanas *tipo Granny Smith* (Vega-Gálvez, y otros, 2012), *etc.*, y uno de sus principales inconvenientes es que no permite secar cualquier tipo de materia prima como líquidos, el largo periodo de exposición al secado provoca que se pierdan gran parte de sus propiedades bioactivas como capacidad antioxidante, polifenoles, vitamina C y se presentan grandes diferencias de color (Waghmare, 2021).

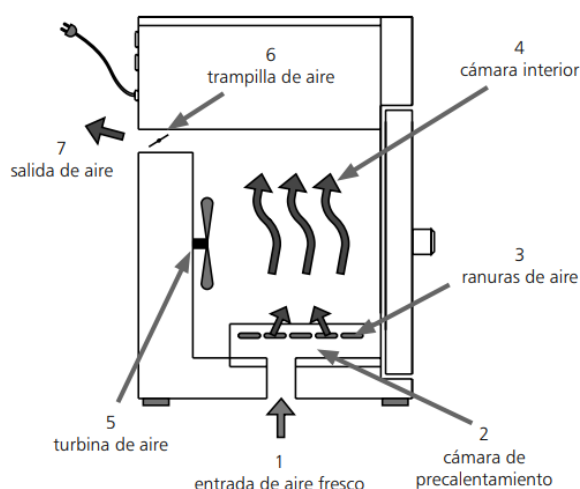


Figura 7. Partes de una estufa convectiva. Obtenido de (Memmert GmbH + Co. KG, 2009)

4.7 SECADO EN VENTANA REFRACTIVA

Este tipo de secado perteneciente a la cuarta generación de métodos de secado representa un avance tecnológico en cuanto a la retención de los componentes bioactivos de los alimentos preservación de la calidad del producto final y su bajo requerimiento de energía en el proceso, esta técnica se utiliza para convertir productos alimenticios líquidos y semilíquidos en polvos, hojuelas o láminas secas, tiene aplicaciones en el área farmacéutica, nutracéutica, cosmética y de pigmentos (Raghavi, Moses, & Anandharamakrishnan, 2018).

El sistema consta de un baño termostático con agua a alta temperatura como fuente térmica, un sistema de recirculación de agua para que la temperatura sea lo más homogénea posible, sobre el agua se ubica una lámina de plástico de poliestireno llamado Mylar (Melinex) hecha de tereftalato de polietileno (PET), un material sin aditivos e inerte

(Raghavi, Moses, & Anandharamakrishnan, 2018) o un material delgado y transparente al infrarrojo, sobre estos materiales mencionados se ubica la materia prima a secar. Este tipo de secado se puede realizar en lotes o continuo, el agua del producto se evapora y es removida por un exhaustivo sistema sobre la lámina ya que el vapor saturado limita la interacción entre el aire y la muestra, un ejemplo esquemático de este sistema de secado continuo manteniendo la película en movimiento como se presenta en la Figura 8. (Bernaert & De Ruyc, 2019).

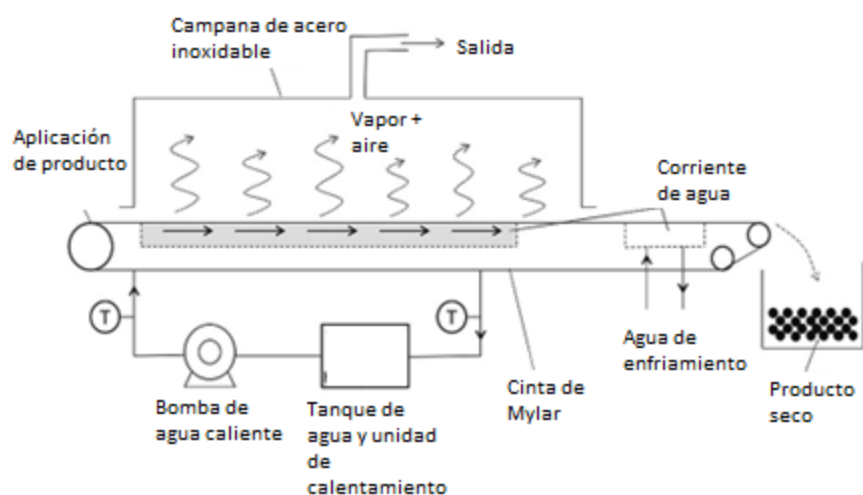


Figura 8. Diagrama esquemático de un sistema de secado por ventana refractiva. Obtenido de (Raghavi, Moses, & Anandharamakrishnan, 2018)

La energía térmica del agua caliente es transferida al alimento por conducción entre la película y el producto y convección desde el agua a la película como los principales mecanismos de transferencia de calor y radiación entre el agua y el alimento, esta absorción de energía dependerá de la temperatura del baño, el espesor del Mylar y la humedad y grosor de la muestra.

El secado en ventana refractiva o hidroconductivo tiene una alta efectividad en reducir el consumo energético y mejora la retención de compuestos lábiles sensibles al calor como vitaminas y antioxidantes, además de tener poca variación de color comparado con métodos tradicionales de secado, esto se debe a que en la superficie del producto se tiene un enfriamiento evaporativo reduciendo la temperatura de la muestra y a que al finalizar el secado se tiene exclusivamente transferencia por conducción lo que ayuda a inhibir la pérdida de calidad del producto.

En comparación por ejemplo con otro secado capaz de retener estas propiedades de similar forma como el proceso de liofilización, el secado hidroconductor necesita entre un 50% y 70% menos de inversión de capital y un 50% menos de consumo energético para secar la misma cantidad de producto, otras técnicas de secado con su respectivo consumo energético y eficiencia se presentan en la tabla 1. Además, es un método de deshidratación que inactiva eficazmente la proliferación de bacterias patógenas vegetativas, es de bajo costo operacional y trabaja a presión atmosférica y temperaturas relativamente bajas (Waghmare, 2021).

Algunos alimentos que ya se han desarrollado bajo esta técnica son manzanas *tipo Malus doméstica*, (Rajoriya, Shewale, Bhavya, & Hebbar, 2020), *leche* (Al-Hilphy, y otros, 2020), *pure de zanahoria* (Abonyi, y otros, 2002), *salmón* (Franco, y otros, 2019), *kiwi* (Jafari, Azizi, Mirzaei, & Dehnad, 2016) y *variados frutos rojos* (Nemzer, Vargas, Xia, Sintara, & Feng, 2018).

Tabla 1. Comparación de consumo energético y eficiencia en distintas técnicas de secado (Fuente: (Raghavi, Moses, & Anandharamakrishnan, 2018)).

Tipo de secado	Capacidad típica, $\frac{kg_{H_2O}}{h}$ por m^3 o m^2	Consumo energético típico, $\frac{kJ}{kg_{H_2O}}$	Eficiencia térmica, %
Túnel de secado	-	5500-6000	38-42
Secado rotatorio	$30 - 80 m^{-2}$	4600-9200	25-50
Lecho fluidizado	-	4000-6000	<38-48
Secado Spray	$1 - 30 m^{-3}$	4500-11500	20-51
Drum (para pastas)	$6 - 20 m^{-2}$	3200-6500	35-78
Ventana refractiva (escala piloto)	$6 m^{-2}$	4743	28-48

4.8 PROCESOS DE DIFUSIÓN

Modelo basado en la 2ª ley de Fick

A partir de la solución analítica de la segunda ley de Fick propuesta por (Crank, 1975) y considerando que: la rodaja del producto es considerado como una placa infinita, la

temperatura del ambiente es constante, el coeficiente de difusión es constante y que otros mecanismos de difusión como el encogimiento de la muestra no son significativos, entonces se puede describir el modelo como:

$$MR_t = \frac{W_t - W_e}{W_0 - W_e} = \frac{8}{\pi^2} \sum_{i=1}^{\infty} \frac{1}{(2i-1)^2} e^{\left(\frac{-(2i-1)^2 \pi^2 D_{eff} t}{4L^2}\right)}$$

Donde W_t es la humedad en el tiempo en g agua/g base húmeda, W_e es la humedad de equilibrio en g agua/g base húmeda, W_0 es la humedad inicial en g agua/g base húmeda. El valor de W_e y W_0 fue obtenido a partir de las curvas de humedad.

Para tiempos largos, donde $MR < 0,6$, se puede simplificar la expresión anterior utilizando solo el primer término de la serie apareciendo el modelo de Fick:

$$MR_t = \frac{8}{\pi^2} e^{\left(\frac{-D_{eff} \pi^2 t}{4L^2}\right)}$$

Donde D_{eff} es el coeficiente de difusión efectivo en m^2/s , t es el tiempo de secado en s, y L es la mitad del grosor de rodaja en m.

Modelo de difusión anómala

En general los procesos de difusión son representados por el modelo de Fick aunque su aplicabilidad está restringida a medios homogéneos e isotrópicos. En el caso de material biológico la presencia de trayectorias preferenciales puede producir una desviación en la difusión tradicional. A esto se le llama difusión anómala (Klafter & Sokolov, 2005).

(Simpson, Jaques, Nuñez, Ramirez, & Almonacid, 2012) han implementado un modelo de difusión anómalo para algunas matrices alimentarias basándose en la aproximación de cálculo fraccional. El cálculo fraccional es una extensión del cálculo tradicional donde el orden de diferenciación puede ser diferente a una integral. Esto permite la representación de un proceso de difusión donde el difusor no tiene un medio homogéneo y hay una trayectoria alta de difusión, el modelo proviene de:

$$\frac{\partial^\alpha W}{\partial t^\alpha} = D_{eff} \frac{\partial^\beta W}{\partial x^\beta}$$

Donde W es la concentración de agua en el alimento en g agua/g base húmeda, D_{eff} es el coeficiente de difusión efectivo en m^2/s^α considerando que α está relacionado con el tiempo anómalo entre saltos y el orden de diferenciación fraccional β se relaciona con el largo de saltos anómalos.

Se ha demostrado en matrices alimentarias que la componente espacial converge a 2 y la componente temporal tiene un orden fraccional (Simpson, Jaques, Nuñez, Ramirez, & Almonacid, 2012), entonces se tiene:

$$\frac{\partial^\alpha W}{\partial t^\alpha} = D_{eff} \frac{\partial^2 W}{\partial x^2}$$

Luego, la solución para el modelo de difusión anómalo es:

$$MR_t = \frac{8}{\pi^2} \sum_{i=1}^{\infty} \frac{1}{(2i-1)^2} E_\alpha \left(-D_{eff} \left(\frac{(2i-1)\pi}{2L} \right)^2 t^\alpha \right)$$

Donde E_α corresponde a una función de Mittag-Leffler considerando el tiempo de secado largo:

$$MR_t = \frac{8}{\pi^2} E_\alpha \left(-D_{eff} \left(\frac{\pi}{2L} \right)^2 t^\alpha \right)$$

Si el parámetro temporal, α converge a un valor unitario, la función Mittag-Leffler converge a una función exponencial. Entonces, si las condiciones de tiempo de secado largo se encuentran:

$$MR_t = \frac{8}{\pi^2} e^{(-D_{eff}(\frac{\pi}{2L})^2 t^\alpha)}$$

El valor α indica que el mecanismo de transporte domina el proceso de transferencia de masa. Si $0 < \alpha < 1$ el mecanismo de difusión se asume como sub difusivo mientras el mecanismo se considera super difusivo cuando $\alpha > 1$. Si α converge a un valor unitario, el modelo de difusión anómala se transforma en la segunda ley de Fick.

5 MATERIALES

5.1 MATERIA PRIMA.

Se utilizó como materia prima manzanas de *tipo Granny Smith*, obtenidas del comercio local JUMBO, refrigeradas y almacenadas a 2 °C. Éstas fueron cortadas en rodajas y con ayuda de un cilindro metálico (sacabocado) y una mandolina de espesor regulable se obtienen discos de 40 mm de diámetro y 3 mm de espesor como se observa en la Figura 9.

Luego se les realiza un escaldado siguiendo el procedimiento de (Akman, Uysal, Ozkaya, Tornuk, & Durak, 2019) con algunas modificaciones, las muestras se sumergen en agua destilada a 90 °C por 1 min y luego en agua destilada fría (4 a 8 °C) por 1 min para evitar la oxidación enzimática.



Figura 9. Preparación de las rodajas de manzana con el diámetro y espesor deseado.

5.2 SOLUCIÓN DE IMPREGNACIÓN.

El tipo de cultivo utilizado fue *L. Casei*, específicamente *L.Rhamnosus* derivados de ATCC 53103TM* (Microbiologics, E.E.U.U) importados por Medica-tek, Chile en formato sólido liofilizado.

Para la reactivación de los probióticos se traspasa la cepa original a un tubo con caldo MRS (HiMedia Laboratories Pvt.Ltd, India) y se incuba por 24 h a 37 °C, luego se toma una muestra con un asa en loop y se siembra en placas con agar MRS (Merck, Alemania) mediante el método de siembra por estría permitiendo aislar colonias entre sí, estas placas son incubadas por 48 h a 37 °C y después se toma una colonia de las placas anteriores y se incuba a 37 °C por 24 horas en un tubo de caldo MRS. La incubación de los microorganismos se hizo en una incubadora (Shel lab, modelo 1555, Cornelius, Oregón, USA).

La solución de impregnación se desarrolló de acuerdo a (Akman, Uysal, Ozkaya, Tornuk, & Durak, 2019) y corresponde a la mezcla de caldo MRS con probióticos y agua peptonada (LOBA CHEMIE PVT. LTD., India) en la proporción 2:3 y la proporción entre masa de rodajas de manzana y solución de impregnación es de 1:5 g/mL (Figura 10).



Figura 10. Preparación de las rodajas impregnadas.

5.3 TRATAMIENTO DE IMPREGNACIÓN

Para realizar el tratamiento de impregnación se utiliza el método propuesto por (Zura-Bravo, y otros, 2019) con algunas modificaciones. Se sumergen los discos de manzana en la solución de impregnación al interior de un desecador, se aplica vacío de 20 kPa mediante una bomba de vacío (DOSIVAC, MODELO Dvr II DVP-1A, Buenos Aires, Argentina) durante 15 min. Por la parte superior del desecador se conecta por un tubo a un matraz de Kitasato, que actúa como trampa de líquidos y es conectado también con una manguera de gases a la bomba de vacío. El sistema anterior está equipado de un vacuómetro y válvulas que permiten regular la presión dentro del desecador. Cuando ya pasaron los 15 min de vacío, se apaga la bomba y la presión interior vuelve a ser la atmosférica dejando por otros 10 min la muestra inmersa en el líquido.

La masa resultante de las muestras se ubica en el rango 3.2483 ± 0.1839 g y su humedad inicial 0.9331 ± 0.002 g de agua/g de muestra (Figura 11).



Figura 11. Rodajas de manzana impregnadas con Lactobacillus Rhamnosus a vacío.

5.4 SECADO CONVENCIONAL (CONTROL)

Esta técnica de secado se realizará con una estufa convectiva (MEMMERT, modelo UFB400, Schwabach, Alemania) que tiene una estabilidad térmica de 0.5 °C, dentro de ella se instalan bandejas de secado, cubiertas con papel mantequilla y sobre ellas las muestras, en promedio se ubicaron 80 muestras por lote de secado a 45 °C (Akman, Uysal, Ozkaya, Tornuk, & Durak, 2019), dando un tiempo de secado de 3 horas y 45 minutos para alcanzar una actividad de agua menor a 0.4.



Figura 12. Disposición de las muestras en el equipo y estufa utilizada.

5.5 SECADO EN VENTANA REFRACTIVA

Para esta técnica de secado se utiliza un baño termorregulado (MEMMERT, modelo WNB 45, Schwabach, Alemania) con una estabilidad térmica de 0.1 °C, dentro del mismo se instala una lámina de Mylar de 0.103 mm de grosor que está en contacto con el agua directamente para evitar que exista aire en medio.

La temperatura del agua del baño termorregulado se estableció a 45 °C (Akman, Uysal, Ozkaya, Tornuk, & Durak, 2019), cuando se alcanza esta temperatura se ubican las láminas de Mylar con las muestras encima lo suficientemente distanciadas corroborando además que no exista aire entre las láminas y el nivel de agua. El área útil de la lámina permite secar 80 muestras.

El secado se realiza bajo condiciones estándar, es decir a 25 °C y 55% de humedad relativa aproximadamente.

El tiempo de secado de las muestras es el requerido para alcanzar una actividad de agua menor de 0.4, para lo cual se sacaron muestras para medir la actividad de agua cada 10 min después de haber transcurrido 200 min de operación. Todas las muestras retiradas de la operación son desechadas después de medir sus propiedades.

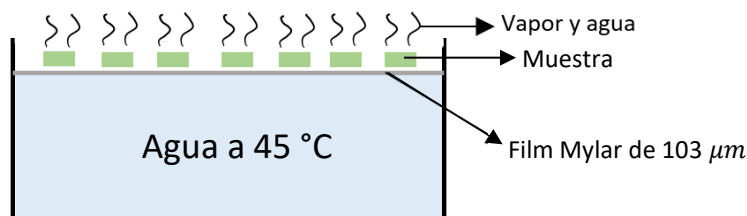


Figura 13. Disposición de las muestras en equipo de ventana refractiva y esquema del sistema propuesto.

6 MÉTODOS

6.1 RECuento PROBIÓTICO.

Para determinar el recuento de probióticos se realizó el método de escala Mc Farland para asegurar que exista en los tubos con caldo MRS al menos 10^8 UFC/mL en cada uno, para ello se desarrolló una curva de calibración en la cual se hicieron mezclas de cloruro de bario con ácido sulfúrico a diferentes concentraciones, y luego con un espectrómetro (Spectronic Instrument Inc., modelo Genesys 5 336001, Nueva York, E.E.U.U) se mide la concentración a partir de la absorbancia de la muestra a una longitud de onda de 550 nm (Whitman, 2004).



Figura 14. Escala Mc Farland realizada.

El recuento probiótico de las muestras tanto recién impregnadas como secas (producto final) y almacenadas por hasta 28 días, se desarrolló de acuerdo con (Akman, Uysal, Ozkaya, Tornuk, & Durak, 2019) y algunas modificaciones, se homogeniza la muestra en agua peptonada para su posterior recuento en placas con el método de dilución seriada. En el primer caso, se muelen 10 g de manzana impregnada en un mortero de cerámica y luego se homogenizan con 90 mL de agua peptonada, para el segundo caso, se toma 1 g de las muestras secas cortadas en pequeños trozos con ayuda de una tijera desinfectada y se homogeneizan con 9 mL de agua peptonada.

Luego se va tomando 1mL de muestra preparada y se traspasa a otro tubo con 9 mL de agua peptonada, las veces que sean necesarias (hasta dilución 10^{-5} para manzanas impregnadas y 10^{-4} para muestras secas).

Para cada dilución se toma una alícuota de 0.1mL y se pasa a placas con agar MRS, con un asa de Drigalsky se esparce la alícuota en toda la superficie de la placa, luego se incuban por 48 horas a 37 °C en una estufa de incubación (Shel lab, modelo 1555, Cornelius, Oregón, USA) para determinar la cantidad de colonias que han crecido en UFC/g.

Luego la cantidad de probióticos presentes en la muestra viene dado por:

$$\bar{X} = \frac{1}{\text{inóculo}} * \frac{1}{\text{dilución inicial}} * \frac{N^{\circ} \text{ de colonias}}{\text{Factor decimal de dilución}}$$

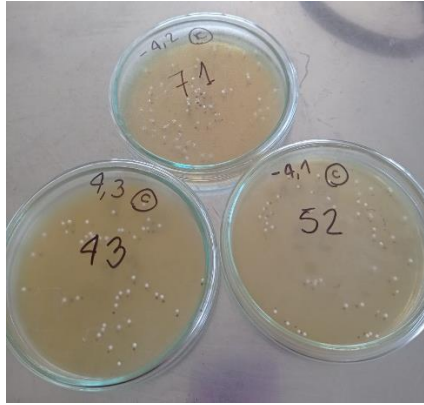


Figura 15. Recuento de microorganismos de manzana seca, dilución de las placas de la imagen de 10^{-7}

6.2 ANÁLISIS DE IMÁGENES POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA POR BARRIDO (SEM).

Para verificar que el proceso de impregnación de probióticos fue exitoso y las bacterias se adhirieron en las zonas intercelulares de las rodajas, las imágenes SEM se obtuvieron usando un microscopio electrónico de barrido (Carl Zeiss SMT, EVO MA 10, Oberkochen, Alemania). Las micrografías se obtuvieron con distintos niveles de aumento, un voltaje de aceleración de 10 kV y una presión de $6 \cdot 10^{-6}$ mbar.

6.3 CONSUMO ENERGÉTICO.

La velocidad de energía eléctrica consumida para cada experimento de secado fue calculada por cantidad de humedad perdida en kg, como lo expresa (Rajoriya, Shewale, Bhavya, & Hebbar, 2020):

$$\text{Velocidad de consumo de energía} \frac{kWh}{kg} = \frac{\text{Energía consumida kWh}}{\text{Humedad removida en el secado kg}}$$

6.4 CINÉTICA DE INACTIVACION DE PROBIÓTICOS.

Para analizar la supervivencia de los microorganismos en las rodajas de manzana se estudia una cinética de inactivación de primer orden, donde C es la concentración de probióticos en UFC/g, t el tiempo en días y k es la velocidad de reacción específica en 1/día:

$$-\frac{dC}{dt} = k \cdot C$$

Integrando desde una concentración inicial C_0 en el tiempo 0, hasta una concentración C en el tiempo t, y reordenando los términos se tiene:

$$C = C_0 * e^{-k \cdot t}$$

Luego con el método de la minimización del error cuadrático medio utilizando la herramienta Solver de Excel, se obtienen los valores de k para cada curva de inactivación.

6.5 ACTIVIDAD DE AGUA.

La medición de la actividad de agua se realiza con un higrómetro de punto de rocío (Decagon Device Inc. Pullman, modelo AQUALab 4TE, Washington, E.E.U.U) que posee un rango de medición de 0.0500 a 1.0000 y una precisión de 0.0030 y se mide al colocar una muestra en un platillo plástico que luego va en el higrómetro.



Figura 16. Medidor de actividad de agua.

6.6 HUMEDAD.

La humedad se determinó de acuerdo con la metodología 934.06 de la AOAC (Association of Official Analytical Chemists) (Fred J. Baur, 1977) donde se masan 5 g a 10 g en una balanza (modelo JD400-3, Zhejiang, China) que tiene una resolución de 0,001 g y se almacenan en un desecador, al cual se le ejerce vacío mediante una bomba (DOSIVAC, MODELO Dvr II DVP-1A, Buenos Aires, Argentina) a una presión menor a los 100 mmHg y luego se llevan las muestras a una estufa (MEMERT, HCP-108, Schwabach, Alemania) a 60 °C por el tiempo necesario hasta alcanzar un peso constante en la muestra. La humedad de una muestra ($X^w(t)$ g/g) depende de la masa de la muestra al inicio del proceso ($M(0)$ g) y la masa de la muestra seca ($M(t)$ g) según:

$$X^w(t) = \frac{M(0) - M(t)}{M(0)} \cdot 100\%$$

6.7 DETERMINACIÓN DE COEFICIENTES DE DIFUSIÓN.

Los coeficientes de difusión se obtienen a partir de las curvas de secado para cada técnica de deshidratación utilizada, esto se realiza midiendo el cambio de masa de cada muestra durante el secado con una balanza digital (modelo JD400-3, Zhejiang, China) que tiene una precisión de 0.001 g.

Para obtener la cinética de secado se utilizan 13 muestras a las que se les registra su peso durante el tiempo de operación de secado, que en el caso de la ventana refractiva fue cada 25 min para el caso de las muestras impregnadas y cada 30 min para las muestras control (sin impregnar) y para el secado convencional fue cada 20 min para las muestras impregnadas y cada 30 min para las muestras control.

Ambos parámetros medidos se llevaron a cabo durante el tiempo de secado y en duplicado.

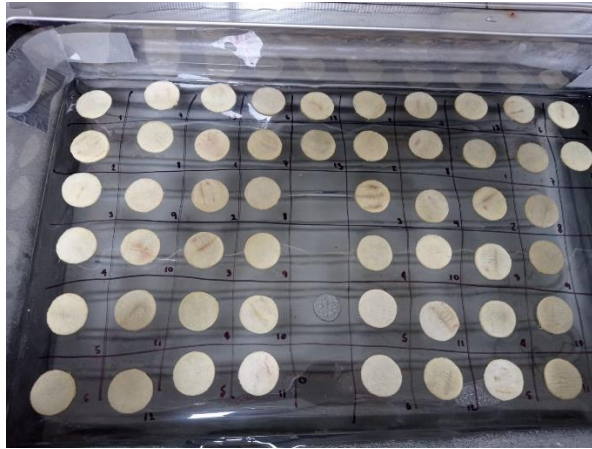


Figura 17. Distribución de las rodajas para medición de curva de humedad.

Para ambos casos se puede calcular el cambio de humedad en el tiempo experimental (MR_t) sabiendo la humedad en el tiempo (W_t), la humedad de equilibrio (W_e) y la humedad inicial (W_0):

$$MR_t = \frac{W_t - W_e}{W_0 - W_e}$$

Luego con el método de la minimización del error cuadrático medio con la herramienta MATLAB R2022A se obtienen los valores de los coeficientes de difusividad efectivo para la ley de Fick y el modelo anómalo, al igual que el parámetro α .

6.8 SÓLIDOS SOLUBLES.

Se utiliza un refractómetro (HANA Instruments, modelo HI-96801, Woonsocket, Rhode Island, E.E.U.U) con una resolución de 0.1°Brix para la determinación del contenido de sólidos solubles.

Se procede a pesar 2 a 3 g en una balanza analítica de muestra (M_t^*) con 25 mL de agua destilada ya masada(W) para ser mezclada y homogenizada con un mortero de porcelana permitiendo extraer los sólidos solubles al agua y después se toman un par de gotas de la solución resultante para ser obtener la lectura de sólidos solubles del refractómetro(A). El porcentaje de sólidos solubles (X_t^{SS}) se calcula como:

$$Z_t^{SS} = \frac{(W + M_t^* \cdot X_t^W) \cdot A}{M_t^* \cdot (100\% - A)}$$

$$X_t^{SS} = \frac{Z_t^{SS} \cdot X_t^W}{(1 - Z_t^{SS})}$$



Figura 18. Preparación de muestras para medición de sólidos solubles y equipo utilizado.

6.9 COLOR.

El color de cada muestra se determina mediante el uso de un colorímetro (Konica Minolta, modelo CR-410, Tokio, Japón) que entrega los parámetros de luminosidad (L^*), coordenada del espectro rojo/verde (a^*) y coordenada del espectro amarillo/azul (b^*) correspondientes a las coordenadas cromáticas del espacio CIELAB. El equipo se calibró antes de cada medición con el blanco estándar ($Y = 94.00$, $x = 0.3158$, $y = 0.3222$) (Konica Minolta, 2022). Con estos parámetros se puede estimar el cambio de color de una muestra procesada respecto de una muestra inicial según (V. Gnanasekharan, 1992):

$$\Delta E = \sqrt{(L_1 - L_2)^2 + (a_1 - a_2)^2 + (b_1 - b_2)^2}$$

Para determinar si una muestra presenta diferencias significativas de color se utiliza el criterio de la norma ISO 12647-2 que define rangos de aceptabilidad y tolerancia de color, donde se tienen diferencias significativas de color en las muestras si $\Delta E > 4$. (Organización Internacional de Normalización, 2012).

Cada medición de color proviene del promedio de 3 repeticiones en distintas áreas de cada rodaja de manzana.

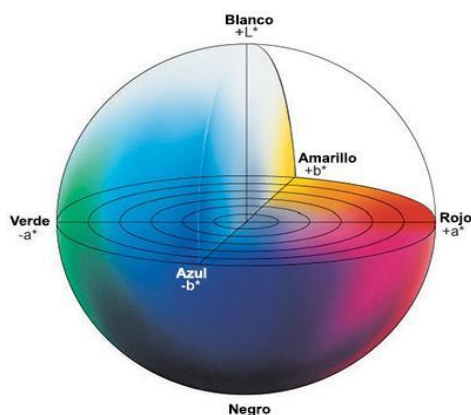


Figura 19. Espacio de color CIELAB.



Figura 20. Equipo de medición de color.

6.10 TEXTURA.

La textura de las muestras fue medida de acuerdo a (Ortiz, y otros, 2013) con algunas modificaciones, el texturómetro (CT3-50 KG Brookfield Texture analyser, AMETEK, Middleborough, Massachusetts, E.E.U.U.) se controla a través de un software (Texture Pro CT v1.2), se utiliza una sonda cilíndrica de 50.8 mm de diámetro (A 25/1000) con una carga de activación de 0.1 N, una velocidad de prueba de 1.0 mm/s y una deformación máxima del 50% de la altura de 8 rodajas obteniendo para las rodajas impregnadas de lactobacillus una altura total de 22.51 ± 0.45 mm. Los ensayos se realizaron en triplicado y el promedio de dureza fue calculado y expresado en N/mm.



Figura 21. Texturómetro utilizado.

6.11 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

El análisis estadístico se hizo mediante el análisis de varianza (ANOVA) y el test de múltiples rangos de Duncan con un 95% de significancia usando el software STATGRAPHIC Ceturion XVI (Statistical Graphic Corporation, version 16.0.07, Rockville, MD, USA).

7 RESULTADOS

7.1 RECUENTO PROBIÓTICO.

A partir de la escala de Mc Farland preparada experimentalmente (Figura 31 del Anexo 1), se obtuvo una concentración de microorganismos en cada tubo de caldo MRS de $6.5 \cdot 10^9$ UFC/mL, por ende, se tiene para la solución de impregnación una cantidad de microorganismos del orden 10^9 por mL de solución al igual que en (Akman, Uysal, Ozkaya, Tornuk, & Durak, 2019). Luego de la impregnación, se obtuvo un recuento celular de $1.83 \cdot 10^8 \pm 2.48 \cdot 10^7$ UFC/mL.

Continuando con el recuento probiótico, en la Figura 22 se muestra la evolución de la cantidad de lactobacillus en el snack entre 0 y 28 días almacenados a 4 °C.

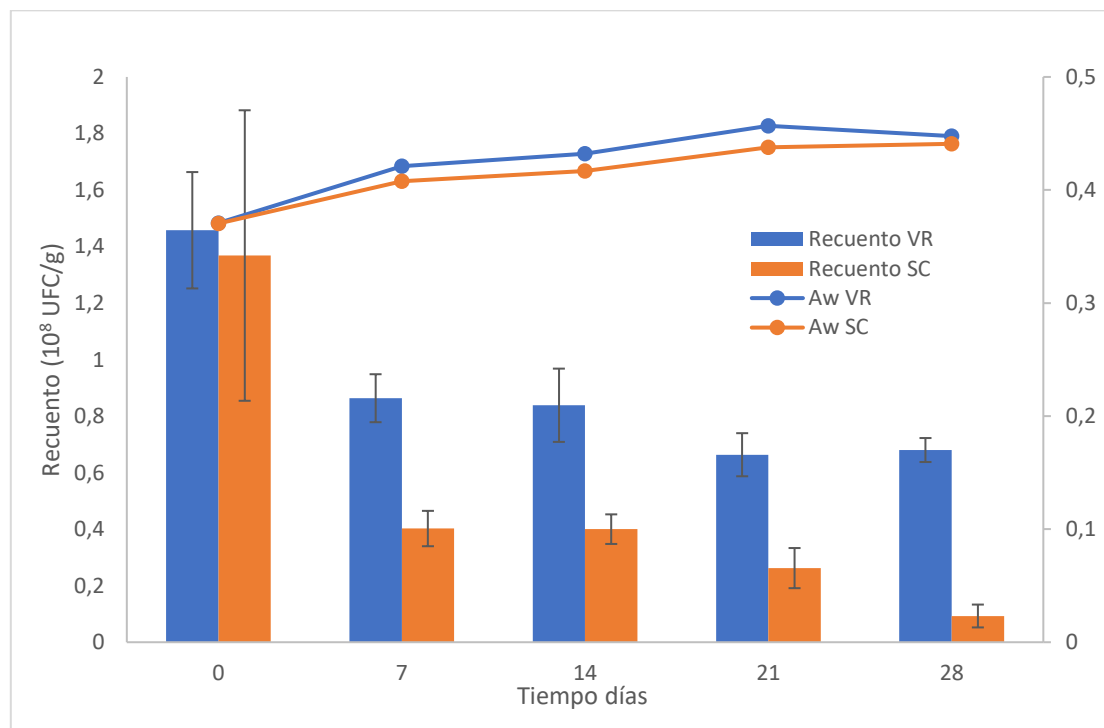


Figura 22. Recuento probiótico en almacenamiento a 4°C UFC/g, n=3.

Al igual que en estudios anteriores (Akman, Uysal, Ozkaya, Tornuk, & Durak, 2019), la reducción de bacterias al final del secado es menor a un ciclo logarítmico, valores similares se han reportado por (Betoret, y otros, 2003), (Zura-Bravo, y otros, 2019) y (Akman, Uysal, Ozkaya, Tornuk, & Durak, 2019).

La cantidad de microorganismos a lo largo del tiempo va disminuyendo hasta en un ciclo logarítmico al cabo de un mes de almacenamiento a 4 °C al igual que en (Akman, Uysal,

Ozkaya, Tornuk, & Durak, 2019). El secado en ventana refractiva ha demostrado ser el mejor sistema de mantener la viabilidad de *Lactobacillus rhamnosus* en las rodajas de manzanas impregnadas con un recuento de $6.0 \cdot 10^7$ UFC/g a los 28 días de almacenamiento. Esta viabilidad puede ser afectada por el estrés celular causado por el aumento de temperatura y la rapidez de pérdida de agua intracelular (Zura-Bravo, y otros, 2019).

Además, se observa una mejor retención significativa de probióticos al almacenar a baja temperatura utilizando como secado la ventana refractiva. Para el caso de ambos tipos de secado, las láminas de manzana tienen la cantidad mínima de bacterias para ser considerado un snack con probióticos incluso hasta después de 28 días independiente de la técnica de secado utilizada (Capurso, 2019).

Para el caso del almacenamiento a una temperatura de góndola, es decir 25 °C (Figura 23), los microorganismos prevalecen sólo hasta los 14 días, disminuyendo en un ciclo logarítmico cada semana y luego de los 14 días no se presenta supervivencia alguna de los mismos, esto puede deberse a la rehidratación de las muestras al ser almacenadas a temperatura ambiente aumentado la actividad, se ha visto esta tendencia similar en manzanas con probióticos rehidratadas a los 15 días de haberse secado en (Betoret, y otros, 2003) y en maracuyá enriquecida con probióticos (Lascano, y otros, 2020).

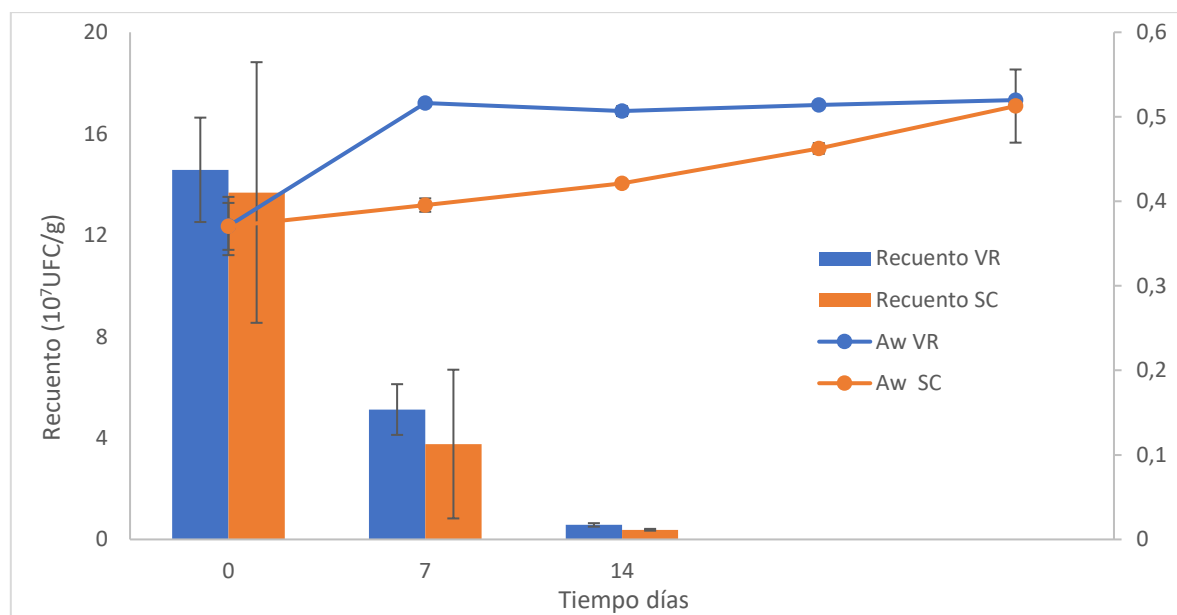


Figura 23. Recuento probiótico en almacenamiento a 25°C UFC/g, n=3.

7.2 ANÁLISIS DE IMÁGENES POR MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA POR BARRIDO (SEM).

Se realizaron diferentes cortes a 3 tipos de muestras de rodajas y se examinaron por microscopia de barrido SEM, las cuales fueron manzana impregnada (muestra control en este caso), manzana impregnada y secada convencionalmente y manzana impregnada y secada en ventana refractiva, cuyas imágenes resultantes se encuentran en las figuras 24 y 25.

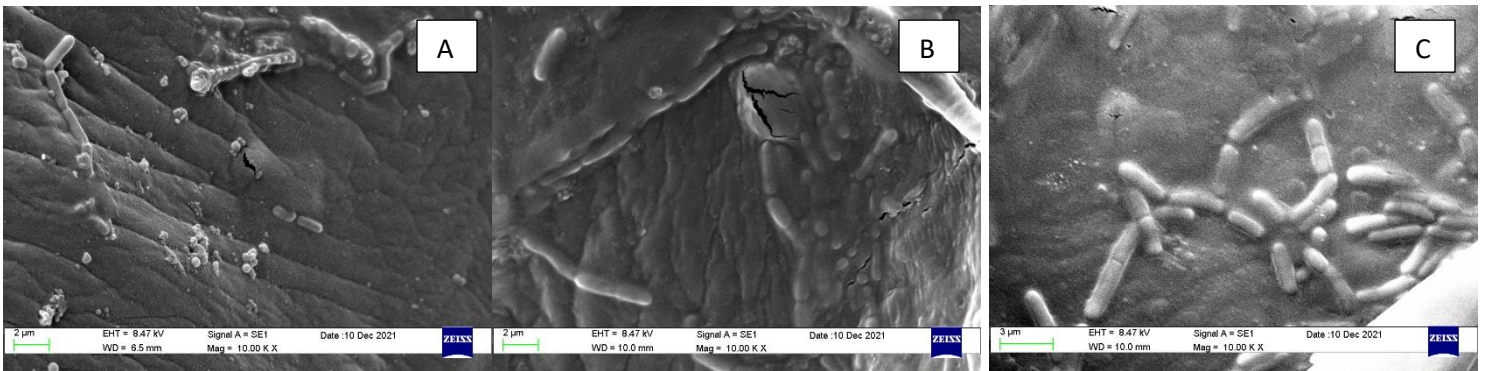


Figura 24. Manzana impregnada (A), Manzana con probióticos en SC (B), Manzana con probióticos en VR (C), imagen aumentada x10000.

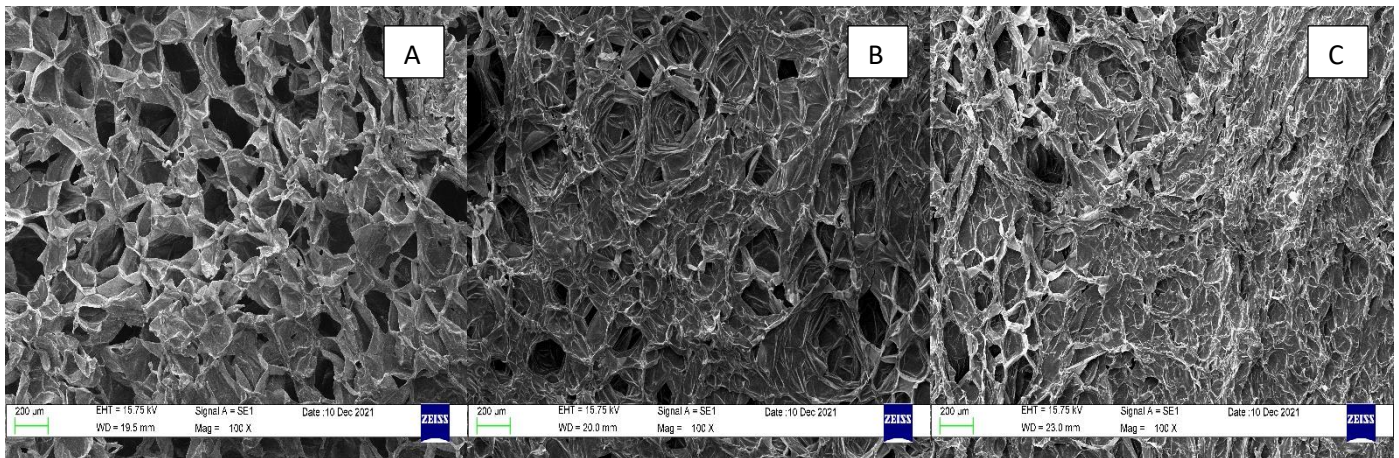


Figura 25. Manzana impregnada (A), manzana con probióticos en SC (B), manzana con probióticos en VR (C), imagen aumentada x100.

A partir de la figura 25-C se observa que el secado en ventana refractiva genera un mayor encogimiento y colapso de los espacios intercelulares de la matriz respecto al control (manzana impregnada liofilizada, Figura 27-A), contradiciendo lo reportado por otros

autores (Rajoriya, Shewale, & Hebbar, 2019), esto puede deberse a errores experimentales tanto durante el proceso de preparación de la materia prima (escaldado, impregnación) o durante el desarrollo de la toma de las micrografías (aleatoriamente se tomó una sección de la muestra seca en VR que tuvo mayor encogimiento).

Además, se aprecia que el proceso de impregnación de probióticos en las rodajas fue efectivo ya que se logran ver las estructuras en forma de bastoncillo perteneciente a los probióticos en las imágenes aumentadas x10.000 de la figura 24, además de visualizar que los microorganismos lograron impregnarse sólo en la superficie al igual que en (Akman, Uysal, Ozkaya, Tornuk, & Durak, 2019), (Li, y otros, 2018) y (Rößle, Auty, Brunton, Gormley, & Butler, 2010).

7.3 CONSUMO ENERGÉTICO.

Se determina el consumo eléctrico por masa de agua removida kWh/kg de acuerdo al tiempo de secado, consumo energético de cada equipo y la masa total de agua removida durante el proceso por cada lote, este último se obtiene a partir de la masa de las manzanas impregnadas con probióticos (masa inicial) y secada en VR y/o SC (masa final). Los valores se presentan en la tabla 2.

Tabla 2. Consumo de energía de cada tecnología de secado.

Tipo de secado	Consumo energético kW	N° muestras /lote	Masa inicial/lote kg	Masa final/lote kg	Masa de agua removida/lote kg	Tiempo activo de consumo h	consumo energético kWh/kg agua
VR	2.8	80	0.25	0.02	0.23	0.48	5.73
SC	1.4	80	0.25	0.02	0.22	1.24	7.74

Se observa que el secado en ventana refractiva reduce el consumo eléctrico en un 26% respecto al secado convencional, debido a que el secado en estufa convectiva tiene un consumo de $7.74 \text{ kWh/kg}_{\text{agua}}$ y en ventana refractiva de $5.73 \text{ kWh/kg}_{\text{agua}}$, similar a lo reportado por (Rajoriya, Shewale, Bhavya, & Hebbar, 2020) para el secado de manzanas *Malus domestica* donde el uso de VR logró reducir el requerimiento energético en un 18-20%.

7.4 CINÉTICA DE INACTIVACIÓN DE PROBIÓTICOS.

La estabilidad de los probióticos impregnados en las rodajas de manzana puede ser expresada a través de la velocidad de muerte celular k . Los valores de k por tipo de secado se presentan en la tabla 3.

Tabla 3. Valores de k por tipo de secado y temperatura de almacenamiento.

Temperatura °C	VR		SC	
	Constante cinética k (1/día)	R^2	Constante cinética k (1/día)	R^2
4	0.038 ± 0.012	0.910 ± 0.059	0.117 ± 0.046	0.972 ± 0.014
25	0.167 ± 0.026	0.993 ± 0.009	0.218 ± 0.056	0.996 ± 0.006

Para ambas temperaturas se observa que el secado convencional tiene un efecto más perjudicial en la estabilidad celular de los probióticos en el snack, además los valores de k aumentan al tener una mayor temperatura, lo que se condice con otros estudios con *Lactobacillus* como (Gul, Con, & Gul, 2020) y (Savedboworn, y otros, 2019). Esto se puede explicar en la disponibilidad hídrica en las rodajas de manzana, cuando las muestras tienen mayor actividad de agua la estabilidad de los probióticos disminuye, complementando el análisis de los recuentos por lo que al hidratarse las rodajas de manzana a temperatura ambiente los microorganismos mueren con mayor velocidad que a baja temperatura (Xu, Gagné-Bourque, Dumont, & Jabaji, 2016).

7.5 ACTIVIDAD DE AGUA.

Se observa desde la tabla 9 del Anexo 2 que la actividad de agua aumenta luego de impregnar las rodajas (0.961 ± 0.009 antes de impregnar y 0.994 ± 0.005 después de impregnar) lo que indica que la impregnación con la solución ha sido efectiva, además, las muestras control secas tienen menor actividad de agua que las impregnadas y secadas (0.357 ± 0.022 para CSC, 0.367 ± 0.006 para CVR, 0.370 ± 0.028 para PSC, 0.371 ± 0.034 para PVR), sin embargo no se observan diferencias significativas ($P < 0.05$) y la deshidratación por ventana refractiva es aquella que tiene mayores valores de actividad de agua pero no existen diferencias significativas entre los valores de cada tratamiento de secado con y sin impregnación ($P < 0.05$), resultados similares

se obtuvieron en el secado mediante estufa convencional y a vacío de manzana impregnada con *L. paracasei* (Akman, Uysal, Ozkaya, Tornuk, & Durak, 2019).

7.6 HUMEDAD.

Se observa en la tabla 10 del Anexo 3 que la impregnación aumenta el contenido de agua en las rodajas al igual que en estudios anteriores de impregnación (Contreras, Martín, Martínez-Navarrete, & Chiralt, 2005) es decir la humedad de la manzana fresca fue de $0,823 \pm 0,003$ y la de manzana impregnada con probióticos fue de 0.993 ± 0.002 , los valores de humedad por tratamiento fueron 0.120 ± 0.004 para CSC, 0.100 ± 0.004 para CVR, 0.126 ± 0.015 para PSC, 0.095 ± 0.007 para PVR, por lo que por tipo de secado no tienen diferencias significativas entre el tratamiento aplicado, obteniéndose valores de y las muestras secadas en ventana refractiva son significativamente menores que al control de secado convencional ($P < 0.05$). En otros reportes se ha visto que la humedad de las muestras secadas en ventana refractiva es superior al secado convencional (Rajoriya, Shewale, Bhavya, & Hebbar, 2020) (Contreras, Martín, Martínez-Navarrete, & Chiralt, 2005), tendencia que no se observa en este caso y puede deberse al tipo de secado convencional elegido para hacer la comparación o debido a que en ventana refractiva se facilita la mantención de la estructura porosa de la manzana (menos encogimiento) lo que conlleva una difusión más rápida y fácil (Rajoriya, Shewale, & Hebbar, 2019).

7.7 DETERMINACIÓN DE COEFICIENTES DE DIFUSIÓN.

Las curvas de secado para el control y las muestras impregnadas y secas usando secado convencional y ventana refractiva se muestran en la figura 26(CSC), figura 27(CVR), figura 28 (PSC) y figura 29(PVR).

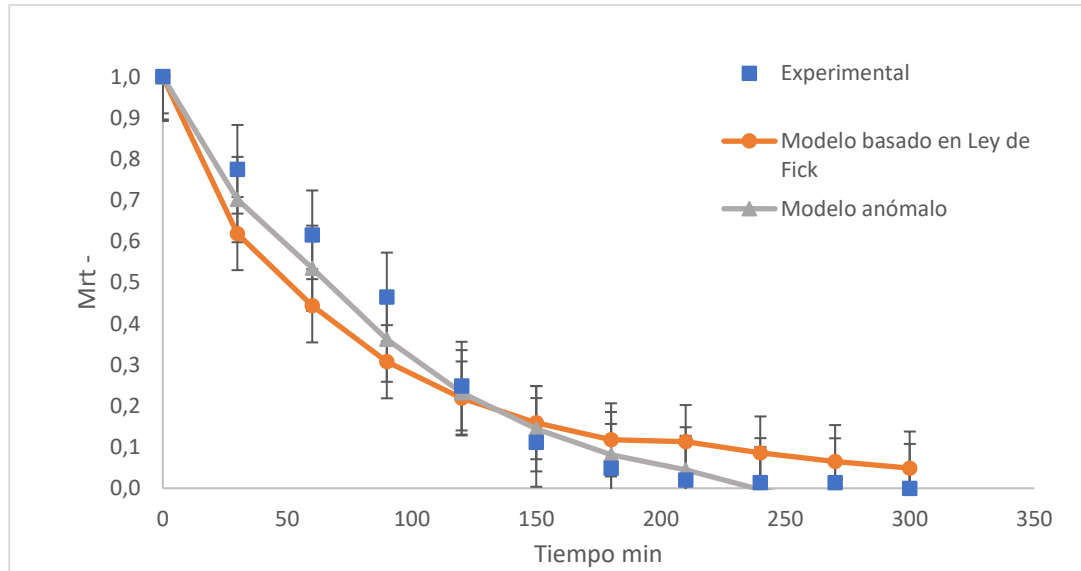


Figura 26. Ajuste de modelos para CSC (control secado convencional).

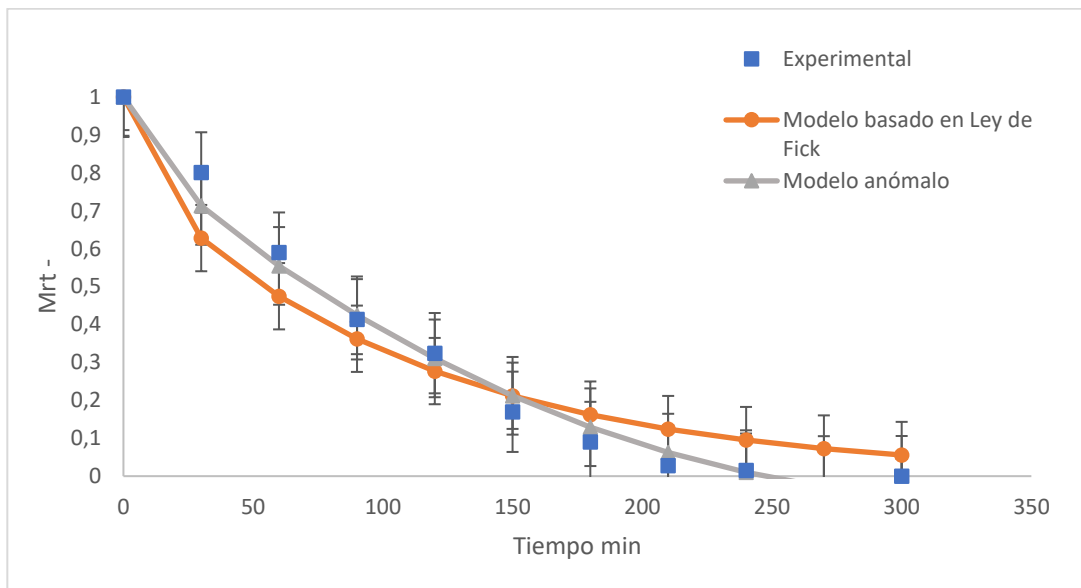


Figura 27. Ajuste de modelos para CVR (control en ventana refractiva).

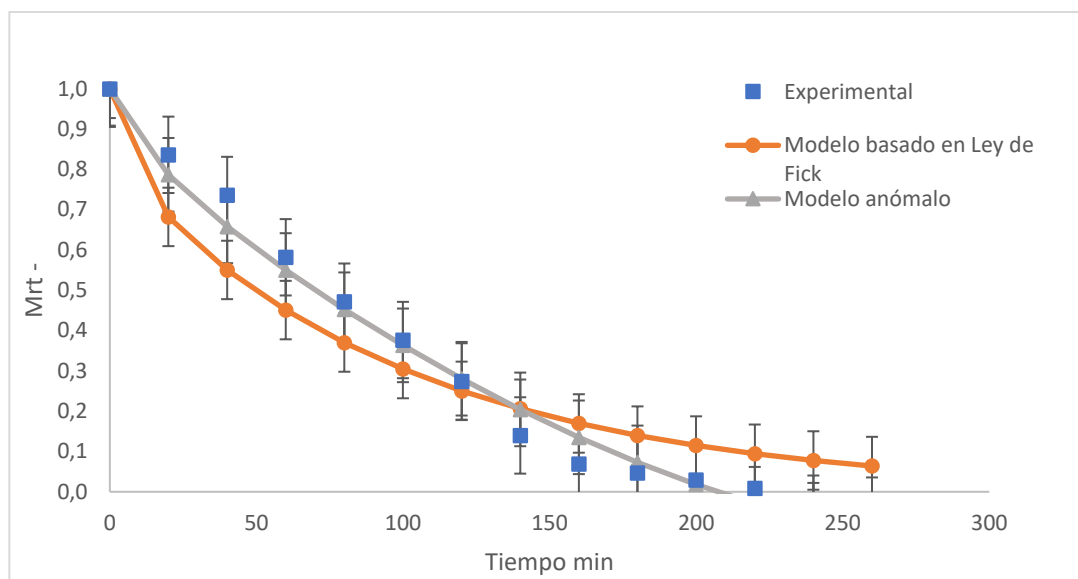


Figura 28. Ajuste de modelos para PSC (secado convencional con probióticos)

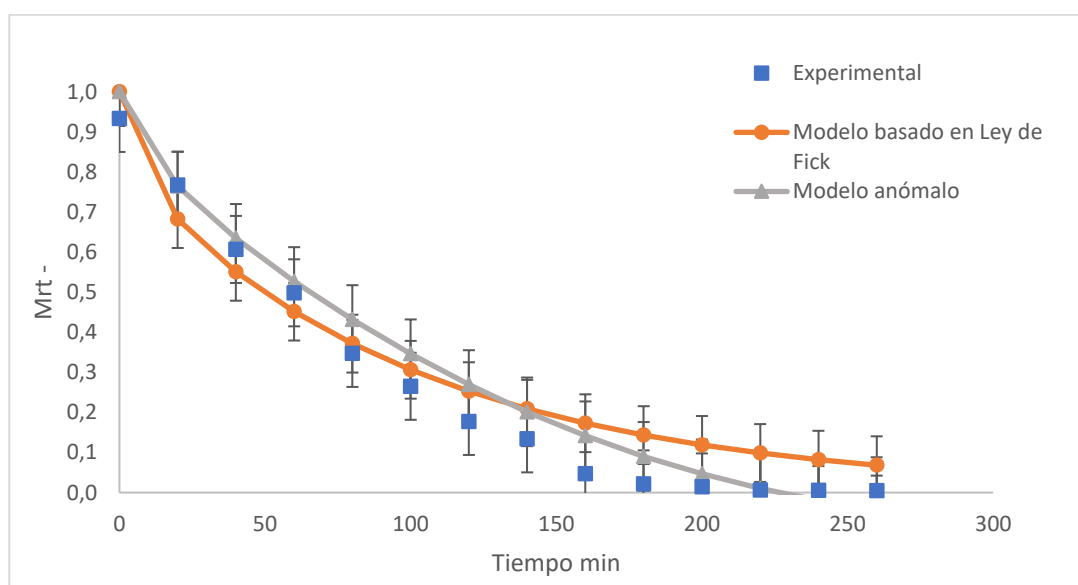


Figura 29. Ajuste de modelos para PVR (secado en ventana refractiva con probióticos).

En vista de lo observado en las figuras anteriores, se observa que el modelo de difusión anómala representa el fenómeno de mejor manera para tiempos largos de secado donde el $Mrt < 0.6$.

Según el modelo basado en la 2° ley de Fick:

Tabla 4. Resultados de coeficiente de difusión según Ley de Fick.

Tratamiento	$D_{eff} \left(10^{11} \cdot \frac{m^2}{s^\alpha} \right)$	SSE	R^2
CSC	57.079 ± 3.409^a	0.710 ± 0.868	0.918 ± 0.023
CVR	55.486 ± 3.836^a	0.095 ± 0.030	0.926 ± 0.019
PSC	61.595 ± 5.143^a	0.590 ± 0.816	0.901 ± 0.037
PVR	2657.98 ± 1884.81^b	0.162 ± 0.089	0.926 ± 0.012

Según modelo de difusión anómalo:

Tabla 5. Resultados de coeficiente de difusión y el parámetro alpha según el modelo de difusión anómalo.

Tratamiento	$D_{eff} \left(10^{11} \cdot \frac{m^2}{s^\alpha} \right)$	α	SSE	R^2
CSC	5.348 ± 1.621^a	1.258 ± 0.028^a	0.640 ± 1.057	0.969 ± 0.016
CVR	4.447 ± 1.469^a	1.274 ± 0.031^a	0.026 ± 0.013	0.980 ± 0.008
PSC	4.097 ± 2.965^a	1.352 ± 0.173^a	0.518 ± 969	0.978 ± 0.004
PVR	685.04 ± 533.99^b	1.280 ± 0.079^a	0.109 ± 0.131	0.980 ± 0.003

Se observa que al modelar el proceso con la 2° Ley de Fick se tienen ajustes menos representativos a lo que ocurre experimentalmente, con coeficientes de correlación menores al modelo de difusión anómalo.

Es por la información de las tablas anteriores que, como el parámetro Alpha (α) es mayor a 1, el coeficiente de correlación es mayor al utilizar el modelo anómalo en todos los casos y son cercanos a la unidad (0.969 para CSC, 0.980 en CVR, 0.978 en PSC y 0.980 en PVR) en comparación con el modelo basado en la 2° Ley de Fick (0.918 en CSC, 0.926 en CVR, 0.901 en PSC y 0.926 en PVR), se concluye que estos procesos son de tipo superdifusivos siguiendo el modelo de difusión anómalo al igual que lo reportado en manzana por (Franco, y otros, 2019) y los valores de coeficientes efectivos de difusión son significativamente similares entre si para todos los tratamientos excepto las muestras impregnadas y secadas en ventana refractiva ($P < 0.05$).

Se ha reportado también que el secado en ventana refractiva tiene una difusión más homogénea en el tejido debido al calentamiento efectivo por conducción y radiación

respecto del secado convencional de túnel de aire caliente (Simpson, y otros, 2015), lo que también se observa en este caso, presentándose valores significativamente mayores del coeficiente de difusión efectiva para las muestras impregnadas y secadas en VR que en SC($P < 0.05$).

Respecto al efecto de la impregnación en el secado no se puede concluir que exista alguna relación.

7.8 SÓLIDOS SOLUBLES.

Para todos los tratamientos realizados se midieron los sólidos solubles en base seca, aquellos valores se encuentran en la tabla 11 del Anexo 4.

De este parámetro medido se aprecia que no existen diferencias significativas respecto a los sólidos solubles a la comparación de manzana fresca (0.544 ± 0.035) e impregnada (0.558 ± 0.004) al igual que en (Alegre, Viñas, Usall, Anguera, & Abadías, 2011), (Martins de Oliveira, y otros, 2017) y (Rößle, Auty, Brunton, Gormley, & Butler, 2010), pero si existe un aumento considerable de la variable al disminuir la humedad de las muestras, es decir entre las rodajas de manzana fresca/impregnada y las secadas y además son significativamente distintos todos los tratamientos de secados entre si ($P < 0.05$) (0.711 ± 0.037 para CSC, 0.671 ± 0.029 para CVR, 0.606 ± 0.029 para PSC y 0.781 ± 0.018 para PVR).

En cuanto a la manzana fresca se obtuvieron valores similares a (C. Barrera, 2009). Respecto a los valores obtenidos de manzana deshidratada no se puede concluir que el tipo de secado y/o impregnación de microorganismos tenga algún efecto sobre los sólidos solubles.

7.9 COLOR.

Para ver la diferencia de color en las muestras con probióticos secas se utilizó como referencia las rodajas de manzanas impregnadas con lactobacillus, los valores promedio de cada uno se presentan en la tabla 9.

Tabla 6. Resultados de color por tipo de muestra.

Tipo de muestra	L*	a*	b*	ΔE
Manzana fresca (MF)	76.85 ± 1.76^c	-7.71 ± 1.11^a	20.90 ± 3.00^b	
Manzana impregnada con probióticos (MIP)	68.22 ± 1.81^a	-3.65 ± 0.56^c	27.18 ± 1.78^d	
Manzana sin probióticos en SC (CSC)	83.70 ± 1.16^e	-5.26 ± 0.45^b	24.49 ± 1.95^c	
Manzana sin probióticos en VR (CVR)	85.58 ± 0.55^f	-3.40 ± 0.26^c	15.20 ± 1.14^a	
Manzana con probióticos en SC (PSC)	79.50 ± 1.11^d	-1.36 ± 0.80^d	27.59 ± 0.87^d	11.59 ± 0.91^b
Manzana con probióticos en VR (PVR)	74.96 ± 1.00^b	0.60 ± 0.45^e	29.74 ± 0.69^e	8.43 ± 0.74^a

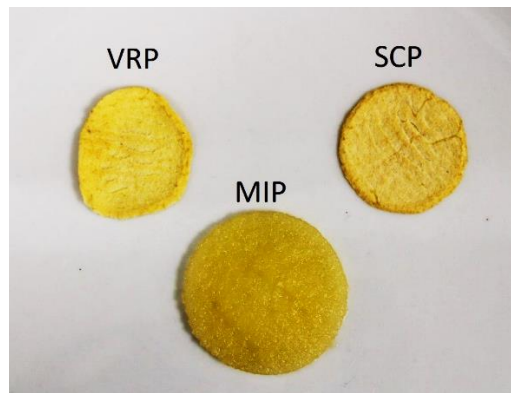


Figura 30. Muestra impregnada (MIP), y secada en ventana refractiva (VRP) o en estufa (SCP)

De acuerdo con lo anterior, se obtuvieron valores similares a (Akman, Uysal, Ozkaya, Tornuk, & Durak, 2019) de L* y b* para el secado convencional (79.52 ± 2.28 y 23.24 ± 3.99 respectivamente para el secado sin probióticos y 80.83 ± 2.74 y 25.16 ± 4.2 respectivamente para el secado con probióticos) y además existen diferencias significativas

para ambos secados con probióticos respecto a la diferencia de color, las rodajas de manzana impregnadas y secadas en estufa convectiva presentan una mayor diferencia de color respecto al control (11.59 ± 0.91), y es significativamente mayor a las rodajas impregnadas y secadas en ventana refractiva (8.43 ± 0.74) ($P < 0.05$), estos cambios de color están relacionados con el método de secado y el pretratamiento que se le aplique a la matriz (Akman, Uysal, Ozkaya, Tornuk, & Durak, 2019). Por lo tanto, se puede concluir que el secado en VR es mejor en términos de color que el secado convencional, concordando con los estudios de (Rajoriya, Shewale, Bhavya, & Hebbar, 2020) (Franco, y otros, 2019) y (Jafari, Azizi, Mirzaei, & Dehnad, 2016).

7.10 TEXTURA.

A continuación, se presenta en la tabla 10 los resultados de dureza obtenidos en las distintas etapas del proceso y por técnica de secado.

Tabla 7. Resultados de dureza por tipo de muestra.

Tipo de muestra	Espesor mm	Dureza N/mm
Manzana fresca	23.97 ± 0.58	442.44 ± 22.95
Manzana impregnada con probióticos	22.51 ± 0.45	162.48 ± 15.71
Manzana sin probióticos en SC	14.27 ± 0.58	5.16 ± 0.78^a
Manzana sin probióticos en VR	11.00 ± 0.18	14.27 ± 1.51^b
Manzana con probióticos en SC	9.20 ± 1.80	1.37 ± 0.23^c
Manzana con probióticos en VR	11.01 ± 0.94	20.66 ± 1.67^d

De acuerdo a la tabla 1 se observa que la dureza de las muestras impregnadas (162.48 ± 15.71) es significativamente menor a la fresca (442.44 ± 22.95) debido a la deformación de las células del tejido de la matriz al experimentar cambios de presión provocadas por la impregnación (Chiralt & Talens, 2005), por otro lado, los valores de textura de todas las muestras secas son significativamente diferentes entre sí lo que puede deberse a que el tipo de secado y el pretratamiento aplicado en la matriz influya significativamente en la dureza (Franco, y otros, 2019), y la dureza de las muestras impregnadas y secadas en ventana refractiva (20.66 ± 1.67) son significativamente mayores al secado convencional (1.37 ± 0.23) ($P < 0.05$), tendencia similar a los resultados reportados por (Jafari, Azizi, Mirzaei, & Dehnad, 2016) en kiwi deshidratado, esto puede deberse a que las propiedades texturales

de los productos alimenticios secados en ventana refractiva son mejores que algunas tecnologías de secado convencional a menores temperaturas (Mahanti, y otros, 2021), a que el grado de madurez de las manzanas pueden afectar también en la dureza de las muestras (Guerra & Casquero, 2005) y a su contenido de humedad menor respecto del secado convencional.

8 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En este estudio, láminas de manzana fueron enriquecidas con *Lactobacillus rhamnosus* mediante impregnación a vacío y secadas usando las técnicas de ventana refractiva y secado convencional en estufa convectiva a 45 °C, obteniéndose un snack probiótico con alta estabilidad microbiológica con ambas técnicas de secado. El secado en ventana refractiva obtuvo mejores resultados en cuanto a características de calor y retención de microorganismos durante el almacenamiento.

El análisis de datos presentado permite concluir que las curvas de secado de rodajas de manzana en ventana refractiva y secado convencional se ajustan al modelo de difusión anómalo, presentando un proceso superdifusivo.

En cuanto a las recomendaciones para futuras investigaciones, se debe considerar como afecta el envase en que se almacena el snack la capacidad de mantener las propiedades del mismo e impedir que se rehidraten, probando con otros tipos envases, sellando a vacío o rellenando el envase con una atmosfera distinta (nitrógeno), además de realizar pruebas sensoriales para determinar la aceptabilidad del producto, se recomienda utilizar en el proceso de impregnación jugo de manzana o de otra fruta, de forma de mejorar el sabor y aroma del producto, y finalmente se recomienda realizar la determinación de polifenoles totales y capacidad antioxidante en el snack para determinar el efecto de los tipos de secado en estas propiedades bioactivas.

REFERENCIAS

- Rößle, C., Auty, M. A., Brunton, N., Gormley, R. T., & Butler, F. (2010). Evaluation of fresh-cut apple slices enriched with probiotic bacteria. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11, 203-209.
- Abonyi, B. I., Feng, H., Tang, J., Edwards, C. G., Chew, B. P., & Mattison, D. S. (2002). Quality retention in strawberry and carrot purees dried with redractance Window system. *Journal of Food Science*, 67, 1051-1056.
- Akman, P. K., Uysal, E., Ozkaya, G. U., Tornuk, F., & Durak, M. Z. (2019). Development of probiotic carrier dried apples for consumption as snack food with the impregnation of *Lactobacillus paracasei*. *LWT- Food Science and Technology*, 103, 60-68. Recuperado el 14 de 05 de 2022
- Alegre, I., Viñas, I., Usall, J., Anguera, M., & Abadias, M. (2011). Microbiological and physicochemical quality of fresh-cut apple enriched with the probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Food Microbiology*, 28, 59-66.
- Al-Hilphy, A. R., Ali, H. I., Al-Iessa, S. A., Lorenzo, J. M., Barba, F. J., & Gavahian, M. (2020). Optimization of process variables on physicochemical properties of milk during an innovative refractance window concentration. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(10).
- Ashitha, G., & Prince, M. V. (2018). Vacuum Impregnation: Applications in Food Industry. *International Journal of Food and Fermentation Technology; New Delhi*, 8(2), 141-151. doi:10.30954/2277-9396.02.2018.3
- Bernaert, N., & De Ruyck, H. (2019). Innovative refractance window drying technology to keep nutrient value during processing. *Trends in Food Science & Technology*, 22-24.
- Betoret, N., Puente, L., Díaz, M. J., Pagán, M. J., García, M. J., Gras, M. L., . . . Fito, P. (Febrero de 2003). Development of probiotic-enriched dried fruits by vacuum impregnation. *Journal of Food Engineering*, 56, 273-277.
- Brozek, J. L., Firmino, R. T., Bognanni, A., Arasi, S., Ansotegui, I., Assa'ad, A. H., . . . Schünemann, H. J. (Abril de 2022). World Allergy Organization (WAO) Diagnosis and Rationale for Action against Cow's Milk Allergy (DRACMA) Guideline update - XIV - Recommendations on CMA immunotherapy. *World Allergy Organization Journal*, 15, 100646. Recuperado el 26 de 06 de 2022, de https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1939455122000229?ref=pdf_download&fr=RR-2&rr=721a41eaf54288d
- C. Barrera, N. B. (2009). Effect of osmotic dehydration on the stabilization of calcium-fortified apple slices (var. Granny Smith): Influence of operating variables on process kinetics and compositional changes. *Journal of Food Engineering*, 416-424.
- Capurso, L. M. (Marzo de 2019). Thirty Years of *Lactobacillus rhamnosus* GG A review. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 53, págs. S1-S41. doi:10.1097/MCG.0000000000001170

- Capurso, L. M. (marzo de 2019). Thirty years of *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Journal of clinical gastroenterology*, S1-S41. Recuperado el 17 de abril de 2022, de https://journals.lww.com/jcge/Abstract/2019/03001/Thirty_Years_of_Lactobacillus_rhamnosus_GG__A.1.aspx
- Chiralt, A., & Talens, P. (2005). Physical and chemical changes induced by osmotic dehydration in plant tissues. *Journal of Food Engineering*, 67, 167-177. Recuperado el 15 de 05 de 2022
- Chou, S. K., & Chua, K. J. (Octubre de 2001). New hybrid drying technologies for heat sensitive foodstuffs. *Trends in Food Science & Technology*, 12, 359-369.
doi:[https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(01\)00102-9](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(01)00102-9)
- Contreras, C., Martín, M. E., Martínez-Navarrete, N., & Chiralt, A. (Agosto de 2005). Effect of vacuum impregnation and microwave application on structural changes occurred during air-drying of apple. *LWT- Food Science and Technology*, 38, 471-477.
- Costa, M. G., Fontenes, T. V., de Jesus, A., & Rodrigues, S. (2013). Sonicated pineapple juice as substrate for *L. Casei* cultivation for probiotic beverage development: Process optimisation and product stability. *Food Chemistry*, 139, 261-266.
- Crank, J. (1975). The mathematics of diffusion. *Oxford: Clarendon Press*, págs. 47-53.
- Ezzati, M., Lopez, A. D., Rodgers, A., & Murray, C. J. (2004). *Comparative Quantification of health risks global and regional burden of disease attributable to selected major risks factors* (Vol. 1). Switzerland: World Health Organization.
- Fito, A. P., Chiralt, A., & Pardo, P. (1996). Coupling of hydrodynamic mechanism and deformation-relaxation phenomena during vacuum treatments in solid porous food-liquid systems. *Journal of food engineering*, 7(3), 229-240.
- Fito, P. (1994). Modeling of vacuum osmotic dehydration of food. *Journal of Food Engineering*, 22, págs. 313-328. doi:[https://doi.org/10.1016/0260-8774\(94\)90037-X](https://doi.org/10.1016/0260-8774(94)90037-X)
- Franco, S., Jaques, A., Pinto, M., Fardella, M., Valencia, P., Nuñez, H., . . . Simpson, R. (2019). Dehydration of salmon (Atlantic salmon), beef, and apple (Granny Smith) using Refractance window: Effect on diffusion behavior, texture and color changes. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 52, 8-16.
- Fred J. Baur, L. G. (01 de 04 de 1977). The Association of Official Analytical Chemists (AOAC). *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 54, 171-172. Obtenido de <https://aocs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1007/BF02670789?msclid=689d40f5c75e11ecb55b88c09fab5d51>
- Galego, J. (17 de 09 de 2019). *El farmaceutico*. Obtenido de https://www.elfarmaceutico.es/tendencias/te-interesa/lactobacillus-rhamnosus-gg-lgg-30-anos-de-beneficios-y-evidencia_110312_102.html
- Gimeno Creus, E. (Julio de 2003). Alimentos funcionales: ¿alimentos del futuro? *Elsevier*, 22(7), 68-71. Recuperado el 09 de 05 de 2022, de <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-alimentos-funcionales-alimentos-del-futuro-13050009>

- Granella, S. J., Bechlin, T. R., & Christ, D. (2022). Moisture diffusion by the fractional-time model in convective drying with ultrasound-ethanol pretreatment of banan slices. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 76, 102933.
- Graphic technology-Process control for the production of half-tone colour separations, proof and production prints. (s.f.).
- Guerra, M., & Casquero, P. (2005). Development of ripeness of apple and pear varieties in a cold storage room with an ethylene absorbent system. *Información tecnológica*, 4, 11-16.
- Gul, L. B., Con, A. H., & Gul, O. (2020). Storage stability and sourdough acidification kinetic of freeze-dried *Lactobacillus curvatus* N19 under optimized cryoprotectant formulation. *Cryobiology*, 96, 122-129.
- Heenan, C. N., Adams, M. C., Hosken, R. W., & Fleet, G. H. (2004). Survival and sensory acceptability of probiotic microorganisms in a nonfermented frozen vegetarian dessert. *LWT - Food Science and Technology*, 37, 461-466.
- hinktag Creative Services. (27 de 03 de 2021). *Australian Food Timeline*. Obtenido de <https://australianfoodtimeline.com.au/1868-granny-smith-apple-appears/>
- Iván Palomo G., J. A.-C. (2010). EL CONSUMO DE MANZANAS CONTRIBUYE A PREVENIR EL DESARROLLO DE ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES Y CÁNCER: ANTECEDENTES EPIDEMIOLÓGICOS Y MECANISMOS DE ACCIÓN. *Revista chilena de nutrición*, 377-385.
- Jafari, S.-M., Azizi, D., Mirzaei, H., & Dehnad, D. (2016). Comparing quality characteristics of oven-dried and refractance window-dried kiwifruits. *Journal of Food Processing and Preservation*, 40, 362-372.
- Jayas, D. S. (2016). *Elsevier*. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780081005965029139>
- Klafter, J., & Sokolov, I. M. (2005). Anomalous diffusion spread its wings. *Physics world*, 18, 29-32.
- Konica Minolta. (28 de 04 de 2022). *Konica Minolta Sensing Americas, Inc*. Obtenido de <https://sensing.konicaminolta.us/mx/blog/entendiendo-el-espacio-de-color-cie-lab/>
- Kun, S., Rezessy-Szabó, J. M., Nguyen, Q. D., & Hoshke, Á. (2008). Changes of microbial population and some components in carrot juice during fermentation with selected *Bifidobacterium* strains. *Process Biochemistry*, 43, 816-821.
- La Vanguardia. (21 de 03 de 2022). *La Vanguardia*. Obtenido de <https://www.lavanguardia.com/comer/materia-prima/20211227/3794/manzana-propiedades-beneficios-tipos.html>
- Lascano, R., Gan, M., Sulabo, A., Santiago, D., Ancheta, L., & Zubia, C. (Abril de 2020). Physico-chemical properties, probiotic stability and sensory characteristics of *Lactobacillus plantarum* S20- supplemented passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.) juice powder. *Food Research* 4, 2, 320-326.

- Li, C., Li-ying, N., Da-ying, L., Chun-quan, L., Ying-ping, L., Chun-ju, L., & Jiang-feng, S. (Enero de 2018). Effects of different drying methods on quality, bacterial viability and storage stability of probiotic enriched apple snacks. *Journal of Integrative Agriculture*, 17, 247-255. doi:[https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(17\)61742-8](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(17)61742-8)Get
- Mahanti, N. K., Chakraborty, S. K., Sudhakar, A., Verma, D. K., Shankar, S., Thakur, M., . . . Srivastav, P. P. (Junio de 2021). Refractance Window-Drying vs. other drying methods and effect of different process parameters on quality of foods: A comprehensive review of trends and technological developments. *Future Foods*, 3, 1-24.
- Maisnam, D., Rasane, P., Dey, A., Kaur, S., & Sarma, C. (2016). Recent advances in conventional drying of foods. *J Food Technol Pres*, 1, 25-34.
- Martins de Oliveira, P., Mota Ramos, A., Furtado Martins, E., Rufino Vieira, É., de Souza Soares, A., & Cardoso de Noronha, M. (2017). Comparison of vacuum impregnation and soaking techniques for addition of the probiotic *Lactobacillus acidophilus* to minimally processed melon. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 2547-2554.
- Memmert GmbH + Co. KG. (29 de 07 de 2009). *Memmert*. Obtenido de <https://www.memmert.com/index.php?eID=dumpFile&t=f&f=2759&token=dd332e01d4c2940c582d90f1538cc5615f578d40>
- Nemzer, B., Vargas, L., Xia, X., Sintara, M., & Feng, H. (2018). Phytochemical and physical properties of blueberries, tart cherries, strawberries, and cranberries as affected by different drying methods. *Food Chemistry*, 262, 242-250.
- Nummer, B. A. (Mayo de 2022). *National Center for Home Food Preservation*. Obtenido de https://nchfp.uga.edu/publications/nchfp/factsheets/food_pres_hist.html
- Ortiz, J., Lemus-Mondaca, R., Vega-Gálvez, A., Ah-Hen, K., Puente-Díaz, L., Zura-Bravo, L., & Aubourg, S. (2013). Influence of air-drying temperature on drying kinetics, colour, firmness and biochemical characteristics of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fillets. *Food Chemistry*, 162-169.
- PdC. (28 de 04 de 2022). *Productos de conservación*. Obtenido de <https://www.productosdeconservacion.com/eshop/papel/967-mylar-melinex-siliconado.html>
- Perry, R. H., Green, D. W., & Maloney, J. O. (2001). *Perry Manual del Ingeniero Químico* (Vol. 5). McGraw-Hill. Recuperado el 05 de 15 de 2022
- Prosapio, V., & Norton, I. (2017). Influence of osmotic dehydration pre-treatment on oven drying and freeze drying performance. *Food Science and Technology*, 401-408.
- Raghavi, L. M., Moses, J. A., & Anandharamakrishnan, C. (2018). Refractance window drying of foods: A review. *Journal of Food Engineering*, 222, 267-275. Recuperado el 15 de 05 de 2022

- Rajoriya, D., Shewale, S. R., & Hebbar, H. U. (2019). Refractance Window Drying of Apple Slices: Mass Transfer Phenomena and Quality Parameters. *Food and Bioprocess Technology*, 12, 1646-1658. doi:<https://doi.org/10.1007/s11947-019-02334-7>
- Rajoriya, D., Shewale, S. R., Bhavya, M. L., & Hebbar, H. U. (2020). Far infrared assisted refractance window drying of apple slices: Comparative study on flavour, nutrient retention and drying characteristics. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 66, 102530.
- Red agraria. (02 de 28 de 2022). *Red agraria*. Obtenido de http://www.redagraria.com/investigacion/fca_unc/tecno_frutas/Manzanas/Granny_Smith.html
- Rodríguez, K., Ah-Hen, K. S., Vega-Gálvez, A., Vásquez, V., Quispe-Fuentes, I., Rojas, P., & Lemus-Mondaca, R. (2016). Changes in bioactive components and antioxidant capacity of maqui, *Aristotelia chilensis* [Mol] Stuntz, berries during drying. *LWT - Food Science and Technology*, 65, 537-542.
- Savedboworn, W., Teawsomboonkit, K., Surichay, S., Riansa-ngawong, W., Rittisak, S., Charoen, R., & Phattayakorn, K. (2019). Impact of protectants on the storage stability of freeze-dried probiotic *Lactobacillus plantarum*. *Food Science and Biotechnology*, 28, 795-805.
- Schoemaker, A. A., Sprickelman, A. B., Grimshaw, K. E., Roberts, G., Grabenhenrich, L., Rosenfeld, L., . . . Beyer, K. (2015). Incidence and natural history of challenge-proven cow's milk allergy in European children - EuroPrevall birth cohort. *European Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 70, 963-972.
- Simpson, R., Jaques, A., Nuñez, H., Ramirez, C., & Almonacid, A. (Marzo 2012). Fractional Calculus as a Mathematical Tool to Improve the Modeling of Mass Transfer Phenomena in Food Processing. *Food Engineering Reviews*, 45-55.
- Simpson, R., Ramírez, C., Birchmeier, V., Almonacid, A., Moreno, J., Nuñez, H., & Jaques, A. (2015). Diffusion mechanisms during the osmotic dehydration of Granny Smith apples subjected to a moderate electric field. *Journal of Food Engineering*, 166, 204-211.
- Trade Map. (06 de 11 de 2020). *Trade Map*. Obtenido de https://www.trademap.org/Country_SelProduct.aspx?nvpm=1%7c%7c%7c%7c%7c080810%7c%7c%7c6%7c1%7c1%7c2%7c1%7c%7c2%7c1%7c%7c1
- Trakoonticakorn, G., Patterson, M. E., & Swanson, B. G. (1988). Scanning Electr Scanning Electron Micr on Microscopy of Cellular Structur y of Cellular Structure of Granny Smith and Red Delicious Apples. *Food Structure*, 7(2), 205-212. Recuperado el 09 de 05 de 2022, de <https://digitalcommons.usu.edu/foodmicrostructure/vol7/iss2/11>
- V. Gnanasekharan, R. S. (1992). Detection of Color Changes in Green Vegetables. *Journal of Food Science*, 149-154.
- Vega-Gálvez, A., Ah-Hen, K., Chacana, M., Vergara, J., Martínez-Monzó, J., García-Segovia, P., . . . Di Scala, K. (2012). Effect of temperature and air velocity on drying kinetics, antioxidant

capacity, total phenolic content, colour, texture and microstructure of apple (var. Granny Smith) slices. *Food Chemistry*, 132, 51-59.

Vega-Gálvez, A., Di Scala, K., Rodríguez, K., Lemus-Mondaca, R., Miranda, M., López, J., & Perez-Won, M. (2009). Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties, antioxidant capacity, colour and phenolic content of red pepper. *Food Chemistry*, 117, 647-653.

Vio, F., Isabel, Z., & Daniela, G. (2008). Implementación de un programa de promoción del consumo de frutas y verduras: corporación 5 al día Chile. En M. d. Agricultura, *Contribución de la política agraria al consumo de frutas y verduras en Chile: un compromiso con la nutrición y la salud de la población* (págs. 25-42). Santiago, Chile. Recuperado el 2021 de 11 de 06, de <https://5aldia.cl/wp-content/uploads/2018/04/libro-contribucion-a-la-politica-agraria.pdf>

Waghmare, R. (2021). Refractance window drying: A cohort review on quality characteristics. *Trends in Food Science & Technology*, 652-662.

Whitman, K. (2004). *Finfish and Shellfish Bacteriology Manual Techniques and Procedures*. Blackwell Publishing Ltd.

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.

Zura-Bravo, L., Rodríguez, A., Stucken, K., Castillo, L., Ah-Hen, K. S., García-Segovia, P., & Vega-Gálvez, A. (2019). Nutritional and organoleptic properties of murta (*Ugni molinae* Turcz) berries impregnated with *Lactobacillus casei* var. *ramnosus* and dehydrated by different methods. *Food Chemistry*, 299, 117-125.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125117>.

9 ANEXOS.

9.1 Anexo 1. Recuento celular mediante Escala de Mc Farland.

Tabla 8. Escala Mc Farland.

N°	BaCl2 0,048M mL	H2SO4 0,36M mL	Volumen final	N°de celulas
0.5	0.05	9.95	10	1.50E+08
1	0.1	9.9	10	3.00E+08
2	0.2	9.8	10	6.00E+08
3	0.3	9.7	10	9.00E+08
4	0.4	9.6	10	1.20E+09
5	0.5	9.5	10	1.50E+09
6	0.6	9.4	10	1.80E+09
7	0.7	9.3	10	2.10E+09
8	0.8	9.2	10	2.40E+09
9	0.9	9.1	10	2.70E+09
10	1	9	10	3.00E+09

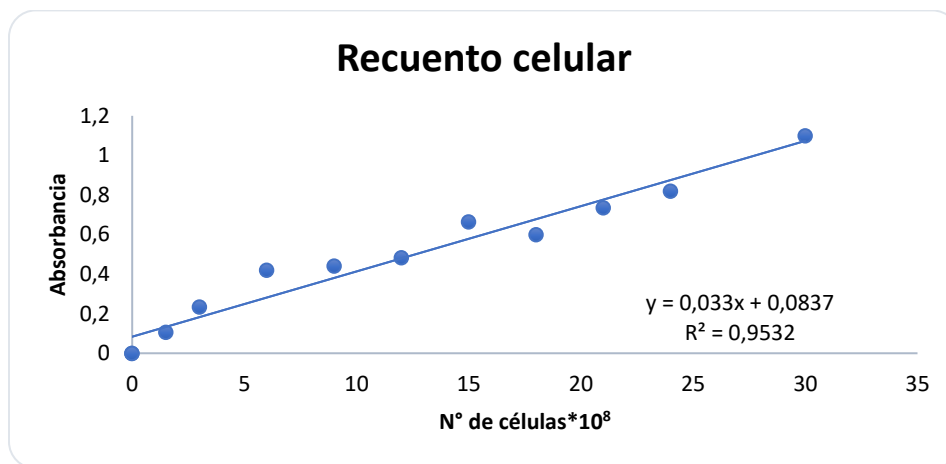


Figura 31. Curva de calibración basada en escala Mc Farland para recuento de microorganismos en caldo MRS.

9.2 Anexo 2. Resultados de actividad de agua.

Tabla 9. Resultados de actividad de agua por tipo de muestra.

Tipo de muestra	Actividad de agua (-)	Tiempo de secado min
Manzana fresca	0.961 ± 0.009^b	
Manzana impregnada con probióticos	0.994 ± 0.005^c	
Manzana sin probióticos en SC	0.357 ± 0.022^a	225
Manzana sin probióticos en VR	0.367 ± 0.006^a	240
Manzana con probióticos en SC	0.370 ± 0.028^a	225
Manzana con probióticos en VR	0.371 ± 0.034^a	240

9.3 Anexo 3. Resultados de humedad.

Tabla 10. Resultados de humedad por tipo de muestra.

Tipo de muestra	Humedad (g/g)
Manzana fresca	0.823 ± 0.003
Manzana impregnada con probióticos	0.933 ± 0.002
Manzana sin probióticos en SC	0.120 ± 0.004^b
Manzana sin probióticos en VR	0.100 ± 0.004^a
Manzana con probióticos en SC	0.126 ± 0.015^b
Manzana con probióticos en VR	0.095 ± 0.007^a

9.4 Anexo 4. Resultados de sólidos solubles.

Tabla 11. Resultados de sólidos solubles por tipo de muestra.

Tipo de muestra	Sólidos solubles (g/g)
Manzana fresca	$0,544 \pm 0,035^a$
Manzana impregnada con probióticos	$0,558 \pm 0,004^a$
Manzana sin probióticos en SC	$0,711 \pm 0,037^b$
Manzana sin probióticos en VR	$0,671 \pm 0,029^c$
Manzana con probióticos en SC	$0,606 \pm 0,029^d$
Manzana con probióticos en VR	$0,781 \pm 0,018^e$

9.5 Anexo 5. Mediciones experimentales.

Tabla 12. Datos experimentales de color (L^* , a^* , b^*) por tipo de muestra.

M. fresca			
N°dato	L^*	a^*	b^*
1	78.89	-7.19	18.65
2	75.33	-6.85	20.80
3	78.07	-7.39	17.47
4	77.46	-6.91	18.37
5	78.31	-6.55	17.80
6	73.29	-8.80	22.97
7	77.11	-6.27	16.58
8	80.23	-6.91	19.12
9	76.06	-7.13	18.19
10	74.46	-6.47	18.06
11	74.18	-7.11	23.29
12	76.73	-9.26	24.23
13	76.54	-9.44	24.78
14	77.49	-7.96	22.33
15	77.47	-8.20	23.25
16	77.65	-9.30	24.14
17	77.19	-9.26	25.33

M. impregnada			
N°dato	L^*	a^*	b^*
1	63.51	-3.68	25.54
2	70.23	-4.15	25.08
3	68.21	-3.71	24.41
4	67.06	-1.26	26.57
5	67.88	-2.42	28.29
6	69.63	-2.49	25.38
7	65.47	-3.50	25.51
8	66.52	-3.26	28.21
9	66.58	-3.65	25.98
10	69.61	-4.03	26.08
11	68.59	-4.19	27.97
12	69.60	-4.03	27.02
13	68.85	-1.72	27.15
14	69.72	-3.35	27.00
15	70.11	-3.01	26.35
16	66.96	-4.23	25.14
17	68.38	-3.63	24.13

18	66.71	-3.97	26.15
19	69.9	-3.99	27.66
20	71.56	-3.89	26.62
21	70.58	-3.57	25.88
22	68.23	-3.73	28.37
23	70.92	-3.77	24.07
24	71.42	-3.9	25.2
25	64.67	-4.41	31.64
26	67.45	-4.17	29.93
27	68.8	-4.53	31.07
28	64.95	-3.62	26.84
29	68.4	-3.71	24.83
30	65.76	-3.78	27
31	69.2	-3.56	25.43
32	68.11	-3.29	27.08
33	65.42	-3.25	29.81
34	67.78	-3.88	26.55
35	68.71	-4	26.41
36	67.02	-3.63	25.86
37	70.52	-3.19	25.11
38	69.16	-3.61	28.15
39	70.66	-3.68	26.86
40	69.57	-3.57	26.45
41	70.28	-4.28	28.17
42	69.38	-4	29.61
43	66.69	-3.59	28.25
44	68.17	-3.94	28.86
45	66.45	-3.76	30.25
46	66.46	-3.67	30.47
47	69.35	-3.73	27.33
48	68.63	-3.76	27.71
49	67.53	-3.72	26.39
50	66.91	-4.24	27.52
51	66.89	-3.81	28.13
52	69.88	-3.77	27.55
53	70.37	-3.56	28.3
54	69.54	-3.65	29.93
55	67.13	-3.94	25.48
56	67.02	-3.74	26.9
57	64.69	-4.34	29.27
58	69.25	-3.46	25.1
59	68.02	-3.36	27.08
60	67.86	-3.55	29.9

CVR			
N°dato	L*	a*	b*
1	85.02	-3.52	16.55
2	85.21	-3.06	14.67
3	85.95	-3.24	13.54
4	86.34	-3.45	15.54
5	85.37	-3.73	15.68

CSC			
N°dato	L*	a*	b*
1	84.11	-4.96	25.49
2	82.91	-4.97	25.04
3	84.19	-4.98	21.32
4	85.12	-5.99	26.41
5	82.16	-5.41	24.19

Tabla 13. Datos experimentales de color (L^* , a^* , b^*) de secado en ventana refractiva con probióticos.

PVR				
N°dato	L*	a*	b*	delta E
1	74.53	1.23	29.91	8.43
2	74.10	1.11	30.50	8.27
3	73.74	0.34	29.66	7.25
4	76.23	0.24	29.42	9.19
5	75.27	0.26	28.60	8.18
6	75.91	0.44	30.33	9.26

Tabla 14. Datos experimentales de color (L^* , a^* , b^*) de secado convencional con probióticos.

PSC				
N°dato	L*	a*	b*	delta E
1	80.51	-2.09	26.89	12.39
2	80.47	-1.70	26.59	12.42
3	79.69	-1.93	27.43	11.61
4	78.48	-0.46	27.58	10.76
5	78.41	-0.79	28.39	10.66
6	81.04	-2.61	27.98	12.89
7	77.85	-0.17	26.31	10.28
8	80.01	-1.22	28.23	12.08
9	79.02	-1.26	28.88	11.20

Tabla 15. Datos experimentales de humedad por tipo de muestra.

N° dato	M. fresca	M. impr	CVR	CSC	PVR	PSC
1	0.823	0.933	0.097	0.120	0.103	0.113
2	0.820	0.931	0.099	0.123	0.094	0.143
3	0.827	0.934	0.105	0.115	0.089	0.121
4	0.824	0.932				
5	0.822	0.934				
6		0.935				
7		0.933				
8		0.936				
9		0.936				
10		0.929				
11		0.935				
12		0.935				
13		0.930				
14		0.936				
15		0.929				
16		0.933				

Tabla 16. Datos experimentales de sólidos solubles por tipo de muestra.

N° dato	M. fresca	M. impr	CVR	CSC	PVR	PSC
1	0.526	0.554	0.706	0.723	0.761	0.630
2	0.477	0.557	0.690	0.653	0.777	0.611
3	0.585	0.558	0.675	0.705	0.790	0.621
4	0.576	0.555	0.642	0.721	0.789	0.646
5	0.582	0.565	0.641	0.755	0.807	0.541
6	0.525				0.794	0.594
7	0.529				0.760	0.582
8	0.578				0.759	0.627
9	0.585				0.791	0.614
10	0.518					0.589
11	0.587					0.613
12	0.521					
13	0.528					
14	0.521					

Tabla 17. Datos experimentales de Actividad de agua (A_w) para cada tipo de muestra.

N° dato	M. fresca	M. impr	CVR	CSC	PVR	PSC
1	0.960	0.997	0.366	0.358	0.350	0.335
2	0.969	0.996	0.374	0.331	0.390	0.362
3	0.964	0.999	0.359	0.385	0.399	0.392
4	0.967	0.998	0.370	0.354	0.404	0.378
5	0.965	0.984	0.368		0.397	0.392
6	0.963	0.992			0.337	0.401
7	0.963	0.992			0.319	0.333
8	0.963	0.993				
9	0.958	0.992				
10	0.963					
11	0.938					
12	0.938					
13	0.959					
14	0.967					
15	0.963					
16	0.968					

Tabla 18. Datos experimentales de dureza por tipo de muestra.

N° dato	M. fresca	M. impr	CVR	CSC	PVR	PSC
1	426.54	184.02	15.98	4.51	23.24	1.50
2	420.80	161.42	13.68	6.03	18.93	1.67
3	433.06	177.26	13.14	4.95	20.45	1.08
4	422.57	181.32			19.61	1.27
5	441.25	165.44			22.11	1.32
6	442.08	149.01			19.61	
7	423.60	156.66				
8	429.27	143.08				
9	429.38	153.18				
10	488.67	147.39				
11	450.32	146.22				
12	446.99	184.76				
13	470.33	174.75				
14	494.30					
15	430.51					
16	429.43					
17	446.69					

18 444.05
19 425,90

Tabla 19. Datos experimentales de recuento probiótico en almacenamiento por tipo de secado

Temperatura de almacenamiento		4 °C		25 °C	
Dia /tipo de secado		VR	SC	VR	SC
0		169444444	78333333	169444444	78333333
0		135666667	174777778	135666667	174777778
0		132166667	157333333	132166667	157333333
7		80333333	44000000	51000000	11500000
7		59000000	33000000	41333333	69333333
7		92333333	43666667	61333333	32000000
14		54333333	36333333	6500000	3866667
14		93000000	46000000	5500000	3433333
14		74666667	37666667	5200000	4133333
21		63333333	19533333		
21		75000000	25466667		
21		60666667	33666667		
28		71000000	8733333		
28		65000000	5533333		
28		43666667	13566667		

Tabla 20. Datos experimentales curvas de humedad CSC

N°	t min	peso inicial g	peso final g	peso inicial g	peso final g	peso inicial g	peso final g	peso inicial g	peso final g
		1	1	2	2	3	3	4	4
1	30	3.446	2.759	3.578	2.878	3.801	2.870	3.281	2.331
2	60	3.315	2.260	3.682	2.394	3.790	2.309	3.082	1.599
3	90	3.792	2.187	3.426	1.507	4.039	2.130	3.258	1.399
4	120	3.076	0.970	3.170	0.910	3.508	1.303	2.635	0.539
5	150	3.343	0.610	3.157	0.555	3.215	0.821	3.368	0.912
6	180	3.435	0.494	3.646	0.559	3.195	0.483	3.972	0.677
7	210	3.098	0.370	3.540	0.452	3.462	0.432	3.174	0.299
8	240	2.860	0.332	3.367	0.422	3.260	0.378	2.904	0.263
9	270	3.627	0.439	3.221	0.382	3.153	0.369	3.358	0.320
10	300	3.053	0.353	3.631	0.427	3.608	0.413	3.613	0.438

Tabla 21. Datos experimentales curvas de humedad CVR.

N°	t min	peso	peso	peso	peso	peso	peso	peso	peso
		inicial g	final g	inicial g	final g	inicial g	final g	inicial g	final g
		1	1	2	2	3	3	4	4
1	30	3.630	2.964	3.602	3.027	3.310	2.658	3.303	2.628
2	60	3.916	2.705	3.363	2.177	3.344	2.136	3.210	1.943
3	90	3.429	1.946	3.675	1.961	2.935	1.337	3.148	1.404
4	120	3.245	1.063	3.615	1.543	3.129	1.210	3.582	1.398
5	150	3.727	1.201	3.657	1.038	3.210	0.851	3.515	0.894
6	180	3.135	0.504	3.625	0.748	3.483	0.764	3.580	0.614
7	210	3.808	0.762	3.688	0.514	3.521	0.510	3.596	0.547
8	240	3.124	0.366	4.022	0.681	3.114	0.330	3.071	0.369
9	270	3.621	0.484	3.579	0.410	3.499	0.395	3.796	0.493
10	300	3.866	0.538	3.695	0.444	3.895	0.459	3.632	0.438

Tabla 22. Datos experimentales curvas de humedad PSC.

N°	t min	peso	peso	peso	peso	peso	peso	peso	peso
		inicial g	final g	inicial g	final g	inicial g	final g	inicial g	final g
		1	1	2	2	3	3	4	4
1	20	3.428	2.723	3.061	2.656	3.445	2.906	3.190	2.635
2	40	3.224	2.219	3.115	2.462	3.112	2.131	3.153	2.301
3	60	3.144	1.778	3.150	2.237	3.328	1.790	3.290	1.899
4	80	2.810	1.123	3.325	2.209	3.374	1.400	3.191	1.554
5	100	3.315	1.361	3.136	1.541	3.118	0.880	3.442	1.404
6	120	3.269	1.124	3.093	1.222	3.123	0.770	3.320	0.988
7	140	3.209	0.360	3.415	1.284	3.161	0.621	3.261	0.575
8	160	2.974	0.322	3.344	0.856	3.110	0.167	3.411	0.413
9	180	3.196	0.396	3.090	0.759	3.041	0.193	3.226	0.178
10	200	3.123	0.232	3.177	0.754	3.255	0.202	3.566	0.232
11	220	3.344	0.283	3.313	0.607	2.866	0.160	2.880	0.166
12	240	3.201	0.201	3.080	0.151	3.430	0.188	3.256	0.185
13	260	3.211	0.198	3.154	0.139	3.274	0.184	3.157	0.159

Tabla 23. Datos experimentales curvas de humedad PVR.

N°	t min	peso	peso	peso	peso	peso	peso	peso	peso
		inicial g	final g	inicial g	final g	inicial g	final g	inicial g	final g
		1	1	2	2	3	3	4	4
1	20	2.993	2.485	2.770	2.217	3.245	2.746	3.123	2.553
2	40	3.382	2.401	3.968	2.162	3.456	2.419	3.442	2.405

3	60	3.382	1.996	3.330	1.807	3.313	1.807	3.425	1.858
4	80	3.206	1.399	3.240	1.253	3.200	1.281	3.262	1.281
5	100	3.227	0.976	3.267	1.065	3.202	0.969	3.149	1.125
6	120	2.856	0.451	2.985	0.723	3.348	0.701	3.244	1.064
7	140	3.352	0.920	3.099	0.360	3.295	0.776	3.240	0.446
8	160	3.321	0.342	3.281	0.306	3.185	0.352	3.529	0.380
9	180	3.220	0.252	3.347	0.243	3.231	0.323	3.353	0.213
10	200	3.003	0.192	3.127	0.200	3.134	0.199	3.369	0.313
11	220	3.203	0.205	3.322	0.210	3.208	0.208	3.259	0.199
12	240	3.369	0.217	3.253	0.210	3.120	0.184	3.194	0.196
13	260	3.373	0.224	3.458	0.216	3.163	0.189	2.888	0.172
