

# **ESTUDIO DEL EFECTO DE LA TEMPERATURA DE SECADO Y EL ESPESOR DE LA MUESTRA SOBRE LA VIABILIDAD DE LOS MICROORGANISMOS Y LAS PROPIEDADES MECÁNICAS DE UN SNACK DE MANZANA (VAR. GRANNY SMITH) CON ALTO CONTENIDO EN *LACTOBACILLUS SALIVARIUS SPP SALIVARIUS*.**

Laura Morales Benavides, Ester Betoret Valls, Noelia Betoret Valls, Cristina Barrera Puigdollers.

## **RESUMEN**

En este estudio se han realizado diferentes experimentos para la obtención de un alimento probiótico a partir de manzana (var. *Granny Smith*) y zumo de mandarina comercial inoculado con *Lactobacillus salivarius spp salivarius*, utilizando la combinación de las técnicas de impregnación a vacío y secado por aire caliente. Los ensayos se realizaron con discos de 2.5 y 7 mm de espesor y a las temperaturas de secado de 30 y 45 °C. Se evaluó el aspecto y las propiedades mecánicas de las frutas secas, así como la viabilidad de los microorganismos en las diferentes etapas del proceso.

Cabe señalar que los cambios introducidos en la preparación de la disolución de impregnación repercutieron positivamente sobre el aspecto final de las muestras y no afectaron a los niveles de crecimiento microbiano alcanzados en las muestras impregnadas.

El hecho de no poder controlar la temperatura del aire durante el proceso de secado y la gran variabilidad de la misma implicó que, en algunos casos, no se alcanzara la concentración microbiana deseada.

Las propiedades mecánicas de las muestras secas se vieron afectadas por los niveles de humedad alcanzados en el proceso, resultando más frágiles aquellas muestras de menor espesor y secadas a la mayor temperatura.

## **RESUM**

En aquest estudi s'han realitzat diferents experiments per tal d'obindre un aliment probiòtic a partir de poma (var. *Granny Smith*) i suc comercial de mandarina inoculat amb *Lactobacillus salivarius spp salivarius*, utilitzant la combinació de la tècnica d'impregnació a buit i el secat per aire calent. Les experiències es van realitzar amb discs de 2.5 i 7 mm d'espessor i a les temperatures de secat de 30 i 45 °C. Es va evaluar l'aspecte i les propietats mecàniques de les fruites seques, així com la viabilitat dels microorganismes a les diferents etapes del procés.

---

Instituto de Ingeniería de los Alimentos para el Desarrollo.  
Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera, s/n 46022. Valencia. España

Cal senyalar que els canvis introduïts en la preparació de la dissolució d'impregnació repercutiren positivament en l'aspecte final de les mostres i no afectaren als nivells de creixement microbià alcançats a les mostres impregnades.

El fet de no poder controlar la temperatura de l'aire durant el procés de secat i la gran variabilitat de la mateixa va implicar que, en alguns casos, no s'alcançara la concentració microbiana desitjada.

Les propietats mecàniques de les mostres seques s'han vist afectades pel contingut d'aigua alcançat al final del procés, resultant més fràgils aquelles mostres de menor espesor i secades a la major temperatura.

## **ABSTRACT**

In this study, vacuum impregnation and hot air drying have been employed for the obtaining of a probiotic food from apple (var. Granny Smith) and commercial mandarin juice inoculated with *Lactobacillus salivarius* spp. *salivarius*. Different experiments were carried out to evaluate the effect of samples thickness (2.5 and 7 mm) and air temperature (30 and 45 °C). The aspect and the mechanical properties of dried fruits, as well as the viability of the microorganism at the different stages of the process were evaluated.

It is necessary to indicate that the changes got in the preparation of the impregnating solution reverberated positively on the final aspect of the samples and did not concern the level of microbial growth reached in impregnated samples.

The fact of not being able to control the temperature of the air during the drying process and its great variability implied that, sometimes, there was not reached the expected microbial concentration.

The mechanical properties of dry samples were affected by their water content at the end of the process, turning out to be more fragile those samples of minor thickness and dried to the major temperature.

**PALABRAS CLAVES:** *Helicobacter pilory*, *Lactobacillus salivarius* spp. *salivarius*, impregnación a vacío, secado por aire caliente, textura.

## INTRODUCCIÓN

*Helicobacter Pylori* es una bacteria patógena grampositiva que causa gastritis de tipo B, úlceras pépticas y gastritis crónica activa. Es una de las infecciones más comunes y depende en gran medida del nivel socioeconómico llegando a afectar al 50% de la población en países desarrollados y al 90% de la población en países en desarrollo. Su asociación con la úlcera gastroduodenal y su inclusión por parte de la IARC (International Agency for Research on Cancer), en 1994, entre los agentes carcinógenos tipo I, la ha convertido en uno de los microorganismos de mayor interés en patología humana (Hunt et al., 1998).

Actualmente, los tratamientos para erradicar dicho patógeno se basan en dos o tres antibióticos (amoxicilina, tetraciclina, claritromicina o metronidazol) más un inhibidor de bomba de protones (omeprazol, lansoprazol, pantoprazol, rabeprazol, esomeprazol) o antagonistas de los receptores H<sub>2</sub> (ranitidina, cimetidina, famotidina) durante un periodo comprendido entre 7 y 14 días. Aunque este tratamiento es efectivo en el 85% de los casos (Graham y Yamaoka, 2000), puede fallar por la aparición de resistencia o intolerancia de los pacientes a los antimicrobianos.

Como alternativa, se han desarrollado diversos estudios clínicos y modelos *in vitro* que demuestran que la asociación de bacterias del género *Lactobacillus* con antibióticos para el tratamiento de la infección ocasionada por *Helicobacter pylori* ejerce un efecto antagonista frente a este microorganismo y reduce los síntomas de intolerancia digestiva debidos a los antibióticos (Hamilton-Miller, 2003). En todos los casos se han empleado productos líquidos, lácteos o zumos, como fuente del microorganismo probiótico.

Por otra parte, la impregnación a vacío ha sido confirmada como una técnica eficaz en la incorporación de componentes con actividad fisiológica en la estructura porosa de determinados alimentos para, de esta forma, obtener alimentos funcionales de apariencia similar a la que presentan en estado fresco (Fito *et al.*, 2001a y b; Gras *et al.*, 2003; Betoret *et al.*, 2003; Barrera *et al.*, 2004; Alzamora *et al.*, 2005; Anino *et al.*, 2006).

Mediante la técnica de impregnación a vacío y el secado por aire caliente el grupo de funcionales del IU-IAD ha desarrollado un producto a partir de manzana con un contenido en *Lactobacillus salivarius spp. salivarius* cercano a 10<sup>8</sup> UFC/g. El estudio piloto con pacientes dispépticos demostró que la incorporación a la dieta del producto desarrollado ejerce un efecto positivo contra la infección ocasionada por *Helicobacter pylori*. Sin embargo, la valoración sensorial del producto final por parte de los pacientes implicados en este estudio hizo recomendable una mejora en el aspecto y la consistencia del mismo. Concretamente la textura fue la característica de calidad peor valorada por los pacientes.

En el presente trabajo se ha estudiado el efecto de la temperatura de secado y el espesor de la muestra sobre la viabilidad de los microorganismos y las propiedades mecánicas de un snack de manzana con alto contenido en *Lactobacillus salivarius spp. salivarius* con vistas a la

realización de posteriores estudios *in vivo* que requieran de una mayor población de pacientes

## **MATERIALES Y MÉTODOS.**

### **Recuperación del microorganismo liofilizado.**

La cepa de cultivo puro de *Lactobacillus salivarius* spp. *salivarius* CECT 4063 fue suministrada por la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT, Universidad de Valencia, Burjassot, Valencia). De acuerdo a las instrucciones establecidas por la CECT para la recuperación del cultivo liofilizado, éste se resuspendió con 1-2 mL de medio de cultivo MRS (Man Rogosa and Sharpe, Scharlau Chemie ®, Barcelona, España) en condiciones de asepsia. A continuación, el liófilo estéril se colocó en 250 mL de medio específico MRS y se incubó a 37 °C durante 24 horas.

### **Medios de crecimiento.**

El medio de crecimiento empleado en este estudio fue zumo de mandarina comercial adquirido en un supermercado local. Con el objeto de conseguir que el zumo reuniera las características adecuadas para el óptimo crecimiento del microorganismo, se adicionó levadura en una proporción de 5 g/L y bicarbonato sódico en una proporción de 9.8 g/L. Para evitar la competencia con la bacteria ácido-láctica y prevenir el excesivo oscurecimiento del medio, la levadura se esterilizó con parte de zumo a 121 °C durante 20 minutos. En cada ensayo se prepararon 3.6 L de medio de tal manera que la relación mínima entre los gramos de zumo y los gramos de manzana fresca fue de 5. Cada litro de zumo se inoculó con 4 mL de medio MRS que contenía el microorganismo crecido y se incubó a 37 °C durante 24 h. Este medio fue empleado como disolución de impregnación a vacío.

### **Materia prima.**

Se utilizaron manzanas de la variedad *Granny Smith*, en estado de madurez adecuado, que fueron adquiridas en un supermercado local. Para llevar a cabo los experimentos de impregnación a vacío, las manzanas se cortaron en discos de 2.5 y 7 mm de espesor y 65 mm de diámetro siguiendo la dirección del eje longitudinal y se descorazonaron con un sacabocados metálico de 20 mm. En cada ensayo se impregnaron de 7 a 12 muestras.

### **Ensayos de impregnación a vacío (IV).**

La operación de impregnación a vacío se llevó a cabo en un equipo construido a nivel de planta piloto en el Departamento de Tecnología de Alimentos de la Universidad Politécnica de Valencia (Fito *et al.*, 1996). En primer lugar, las muestras se sumergieron en el líquido de impregnación y se aplicó una presión de vacío de 50 mbar durante 10 minutos. A continuación,

se restauró la presión atmosférica, manteniendo las muestras sumergidas en el medio durante otros 10 minutos.

### **Ensayos de secado por aire caliente.**

Para la estabilización de las muestras de manzana impregnada se utilizó un secador de bandejas construido a nivel planta piloto en el Departamento de Tecnología de Alimentos de la Universidad Politécnica de Valencia. Las muestras de manzana impregnadas y cortadas con dos espesores diferentes (2.5 y 7 mm) se secaron a las temperaturas de 30 y 45 °C. Cada una de las experiencias se prolongó durante un periodo de 24 horas, midiéndose cada 30 minutos la temperatura en el interior de la cámara con un termómetro de mercurio y la temperatura de las muestras con un termómetro TES 1310 TYPE-K.

### **Recuento de microorganismos: determinación de viables.**

El contenido en microorganismos se determinó por duplicado, tanto en el medio de crecimiento como en las muestras secas, por el procedimiento de siembra en placa, incubación y conteo. La siembra se realizó en profundidad y con doble capa de agar MRS (Scharlau Chemie ®, Barcelona, España) para garantizar condiciones anaerobias. Las placas resultantes se incubaron a 37 °C durante 24 h.

En el caso de las muestras deshidratadas, éstas fueron previamente rehidratadas utilizando una relación de 50 mL de líquido (disolución de impregnación sin inocular y estéril) por gramo de manzana y manteniendo las muestras sumergidas durante 24 horas y a temperatura ambiente (25 °C). A continuación, se tomaron 3 g de muestra sólida y se mezclaron con agua de peptona (Scharlau Chemie ®, Barcelona, España) en una proporción de 9 mL por gramo de muestra seca. La mezcla se trituró y homogeneizó en una bolsa stomacher.

El conteo del número de unidades formadoras de colonia (UFC) por mililitro de zumo inoculado y por gramo de manzana rehidratada se llevó a cabo en las placas cuyo número de colonias se encontraba entre 30 y 300.

### **Determinaciones analíticas.**

Cabe resaltar que todas las determinaciones analíticas descritas en este apartado se realizaron, al menos, por triplicado.

### **ENSAYOS MECÁNICOS.**

Las propiedades mecánicas de las muestras deshidratadas se evaluaron mediante un ensayo de punción llevado a cabo con un analizador de textura marca Stable Micro Systems, modelo TA.XT plus y software Texture Exponent 32 versión 2,0,6,0.

El ensayo se realizó con una sonda cilíndrica de acero inoxidable de 2 mm de diámetro a 24 °C. Las condiciones del ensayo fueron: velocidad de

avance del punzón de 2.0 mm/s, fuerza de activación de 0.04903 N, distancia recorrida por la sonda de 10 mm y celda de carga de 50 kg. Los datos obtenidos en cada ensayo fueron fuerza máxima, tiempo y distancia.

De cada experiencia de secado realizada a una temperatura y con un espesor de muestra se analizaron dos muestras de manzana seca. En cada muestra se realizaron de 3 a 4 medidas.

#### HUMEDAD.

El contenido en agua de las muestras de manzana seca se determinó según el método oficial 20.013 de la AOAC (1980) para frutas ricas en azúcar. Este método se basa en la determinación de la pérdida de peso que experimenta la muestra cuando se coloca en una estufa de vacío a 60 °C hasta alcanzar peso constante. La humedad de las muestras a partir de los pesos obtenidos se calcula con la ecuación 1:

$$x_w = \frac{M_1 - M_2}{M_1 - M_0} \quad (1)$$

donde:  $x_w$  = fracción másica de agua (kg agua/kg muestra);  $M_0$  = peso del recipiente vacío (kg);  $M_1 = M_0 +$  peso de la muestra antes de su secado en estufa (kg);  $M_2 = M_0 +$  peso de la muestra tras su secado en estufa (kg).

#### DENSIDAD.

La determinación de la densidad aparente del zumo comercial sin inocular se realizó con un picnómetro de líquidos a 25 °C y utilizando agua destilada como líquido de referencia.

Para calcular la densidad de los zumos ( $\text{kg/m}^3$ ) se utilizó la ecuación 2:

$$\rho_{\text{líquido}} = \rho_{\text{agua}} \frac{P_1 - P_0}{P_2 - P_0} \quad (2)$$

donde:  $P_0$  = peso picnómetro vacío (g);  $P_1$  = peso del picnómetro lleno del líquido a determinar su densidad (g);  $P_2$  = peso del picnómetro lleno de líquido de referencia (g).

#### ÍNDICE DE REFRACCIÓN Y CONTENIDO EN SÓLIDOS SOLUBLES

La determinación del índice de refracción se realizó con un refractómetro (Abbe Atago 89553 marca Carl Zeiss) termostatado a 20 °C. La lectura en Brix o contenido en sólidos solubles de la fracción líquida de la muestra se realiza directamente y es expresada en porcentaje.

## DETERMINACIÓN DEL pH

La determinación del pH del zumo comercial y de la disolución de impregnación se realizó con un potenciómetro con sistema autocalibrante (pH Meter S20, METTLER TOLEDO SevenEasy) y capaz de trabajar con compensación automática de temperatura. Como valor de pH para cada unas de las repeticiones se consideró la media de dos determinaciones efectuadas sobre la misma muestra, siempre y cuando la diferencia entre ellas fuera menor de 0.1 unidades.

### **Análisis estadísticos.**

El análisis estadístico de los resultados obtenidos consistió en un análisis de la varianza (ANOVA), utilizando el paquete estadístico Statgraphics Plus 5.1.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### **Caracterización físico-química del zumo comercial y de la disolución de impregnación.**

En la TABLA 1 se muestran los valores de las principales propiedades físico-químicas analizadas tanto en el zumo comercial como en la disolución de impregnación por su influencia sobre el crecimiento del microorganismo empleado y sobre el rendimiento de la operación de impregnación a vacío.

Por una parte, el pH del medio condiciona el crecimiento del *L. salivarius spp. salivarius* puesto que posee un rango de pH específico dentro del cual se desarrolla. El pH óptimo para el crecimiento de la cepa utilizada está en un rango de 5.5 – 6.2.

En cuanto al contenido en sólidos solubles (Brix), es un parámetro de calidad de los zumos comerciales que se va a emplear como referencia para la caracterización del zumo utilizado.

Finalmente, es fundamental conocer la densidad del zumo comercial y de la disolución de impregnación porque repercuten directamente en el proceso de impregnación. En caso de utilizar una disolución muy densa, el intercambio gas-líquido que tiene lugar durante la impregnación a vacío se verá dificultado. Además, este parámetro puede tener una notoria influencia sobre la variación de volumen y la deformación de la muestra.

**TABLA 1.** Parámetros físico-químicos del zumo comercial y de la disolución de impregnación. Valores expresados como media  $\pm$  desviación estándar.

	pH	Brix	Densidad (g/cm <sup>3</sup> )
Zumo comercial	3.58 $\pm$ 0.02	12.40 $\pm$ 0.01	1.048 $\pm$ 0.002
Disolución de impregnación	5.96 $\pm$ 0.02	11.90 $\pm$ 0.01	1.085 $\pm$ 0.002

Brix = g sólidos solubles / 100 mL de fase líquida.

Como se puede observar en la TABLA 1, el valor de pH del zumo de mandarina comercial resultó excesivamente bajo para el microorganismo empleado, haciendo necesaria una modificación del mismo. Mediante la adición de bicarbonato sódico, el pH del zumo comercial se elevó hasta un valor aproximado de 6 ya que, según estudios previos (Arilla, 2008; Betoret, 2009), este valor de pH es el que garantiza un mayor crecimiento del microorganismo en cuestión.

En relación al contenido en sólidos solubles (Brix), el descenso observado en la disolución de impregnación con respecto al zumo comercial se ha explicado teniendo en cuenta que el *L. salivarius spp. salivarius* es una bacteria ácido-láctica que durante su crecimiento fermenta los azúcares y produce ácido láctico.

Aunque la disolución de impregnación presentó una densidad superior a la del zumo comercial, estas diferencias fueron muy pequeñas como para afectar al proceso de impregnación a vacío.

Por último comentar que, aunque no se evaluó de forma instrumental, el color de la disolución de impregnación obtenida esterilizando únicamente una parte del zumo, resultó similar al del zumo comercial.

### Recuento de microorganismos en la disolución de impregnación.

Diferentes estudios han puesto de manifiesto que, para conseguir un efecto favorable contra la infección ocasionada por la bacteria *Helicobacter pylori*, la concentración de microorganismos en el alimento que se ingiere tiene que ser al menos de  $10^6$  UFC/g de producto (International Dairy Federation, 1992) o de  $10^7$  UFC/g de producto (Cruchet *et al.*, 2003).

En la TABLA 2 se muestra el contenido microbiano de la disolución de impregnación, obtenida tras inocular con la cepa del microorganismo *L. salivarius spp. salivarius* el zumo de mandarina comercial e incubarlo durante 24 horas a 37 °C con el fin de obtener la máxima concentración de viables.

**TABLA 2.** Contenido microbiano de la disolución de impregnación.

	pH	Contenido microbiano	
		(UFC/mL)	(Log UFC/mL)
Disolución de impregnación	5.96 ± 0.02	(5 ± 4) × 10 <sup>8</sup>	8.5 ± 0.3

Como se puede observar, el contenido microbiano obtenido en el zumo de mandarina con pH entorno a 6 resultó del orden de  $10^8$  UFC/mL. El cambio en la preparación de la disolución de impregnación no afectó de forma negativa al crecimiento de *L. salivarius spp. salivarius*. Dicho crecimiento, tal y como se ha confirmado en un estudio previo (Arilla, 2008; Betoret, 2009), garantiza una concentración microbiana en rodajas de manzana impregnada lo suficientemente elevada como para tener un efecto beneficioso en el tratamiento de la infección ocasionada por el *Helicobacter pylori*.

### Contenido microbiano en las muestras impregnadas.

El contenido microbiano de las muestras impregnadas se determinó únicamente en las muestras de 2.5 mm de espesor mediante siembra y recuento en placa. Una vez comprobado que las rodajas de manzana se impregnaban de forma homogénea y que contenían cantidades adecuadas de *L. salivarius spp. salivarius*, el contenido microbiano de todas las muestras impregnadas se estimó mediante la aplicación de la ecuación teórica propuesta por Betoret (2002). Los valores obtenidos se muestran en la TABLA 3.

**TABLA 3.** Contenido microbiano de las muestras impregnadas.

Espesor (mm)	Contenido microbiano			
	Experimental		Estimación teórica	
	UFC/g	Log (UFC/g)	UFC/g	Log (UFC/g)
2.5	$(8 \pm 2) \times 10^6$	$6.915 \pm 0.108$	$(2.7 \pm 0.2) \times 10^7$	$7.6 \pm 0.3$
7.0			$(8 \pm 6) \times 10^7$	$7.8 \pm 0.3$

Tal y como es posible observar en la TABLA 3 el contenido microbiano evaluado experimentalmente en las muestras impregnadas es menor que el estimado teóricamente. Si bien las diferencias entre los dos valores son lo suficientemente bajas como para no afectar de forma decisiva la concentración microbiana en el producto final, cabe mencionar que la comparación entre el valor experimental y el teórico resultó diferente a la obtenida en estudios previos (Betoret, 2002; Arilla, 2008 y Betoret, 2009). Según estos autores, un pequeño crecimiento de la población microbiana durante la operación de impregnación a vacío provocaba valores experimentales superiores a los estimados teóricamente. Aún así, la cantidad de *L. salivarius spp. salivarius* presente en las muestras impregnadas resultó suficiente para cumplir con las especificaciones de la International Dairy Federation y tener un efecto beneficioso contra la infección ocasionada por el *Helicobacter pylori*.

### Caracterización de las muestras secas.

#### RECUESTO DE MICROORGANISMOS

Con el objetivo de aumentar la estabilidad de las muestras impregnadas, éstas se secaron con aire caliente a 30 ó 45 °C durante 24 horas en un secador de bandejas de dimensiones 50 x 80 x 140 cm<sup>3</sup> con capacidad para 637 discos de manzana, tal y como se explica en el apartado de materiales y métodos. Este equipo, a diferencia del empleado en estudios anteriores (Arilla, 2008; Betoret, 2009), no permite registrar la temperatura alcanzada en la cámara durante el secado, por lo que no dispone de un controlador que mantenga la temperatura constante ni proporciona datos acerca de la variabilidad de la misma durante el proceso. Sin embargo, por su mayor

capacidad y debido a que en un futuro próximo se pretenden realizar estudios *in vivo* que requieran de un mayor volumen de muestra, se decidió trabajar en este caso con el secador de bandejas. Tanto la temperatura de la cámara de secado como la de las muestras se midieron cada 30 minutos durante las primeras 12 horas de secado, quedando sin medir la temperatura durante la noche.

**TABLA 4.** La humedad final y el recuento de microorganismos en la disolución de impregnación y la fruta seca.

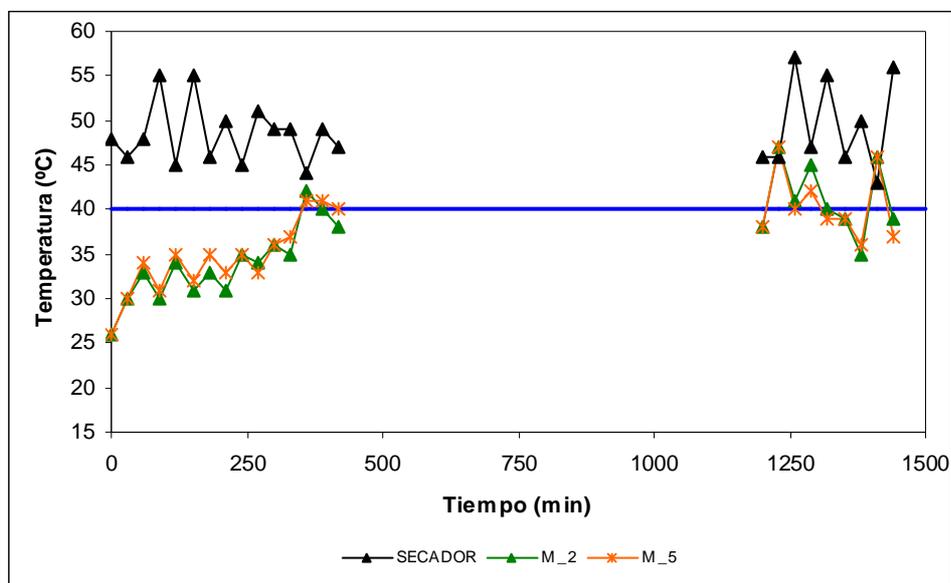
T <sup>a</sup> (°C)	Espesor (mm)	Humedad x <sub>w</sub> <sup>final</sup>	Recuento de microorganismos	
			Disolución de impregnación (UFC/mL)	Fruta seca (UFC/g)
30	2.5	0.089 ± 0.006	(1.38 ± 0.12) × 10 <sup>9</sup>	(5.4 ± 0.3) × 10 <sup>5</sup>
	7.0	0.121 ± 0.009	(4.2 ± 0.5) × 10 <sup>8</sup>	(8 ± 2) × 10 <sup>5</sup>
45	2.5	0.051 ± 0.007	(1.12 ± 0,07) × 10 <sup>8</sup>	(9.7 ± 10.7) × 10 <sup>7</sup>
	7.0	0.138 ± 0.017	(10 ± 6) × 10 <sup>8</sup>	0 ± 0

Como se puede observar, la humedad final de las muestras de igual espesor resultó prácticamente igual para las diferentes temperaturas de secado ensayadas. Además, aunque el recuento obtenido a partir de las disoluciones de impregnación fue en todos los casos del orden de 10<sup>8</sup> – 10<sup>9</sup> UFC/g, en la manzana deshidratada la cantidad de microorganismos que se obtuvo en cada caso varió enormemente. Después del secado se alcanzaron valores del orden de 10<sup>7</sup>, 10<sup>5</sup> e incluso de 0 UFC/g. Estos resultados difieren de los obtenidos en experiencias previas de secado de discos de manzana de 5 mm de espesor a 30 °C, en las que se alcanzó un contenido microbiano de 10<sup>7</sup> UFC/g de producto y un contenido en agua alrededor del 15% (Arilla, 2008; Betoret, 2009). Estos niveles de crecimiento microbiano únicamente se alcanzaron cuando se trabajó con discos de manzana de 2.5 mm de espesor y temperatura de secado de 45 °C.

En el caso de las muestras deshidratadas con aire a 30 °C, la cantidad de microorganismos que se obtuvo fue, para los dos espesores ensayados, del orden de 10<sup>5</sup>. Sorprendentemente, en el caso de los tratamientos de secado llevados a cabo con muestras de 7 mm de espesor y una corriente de aire a 45 °C no se obtuvo crecimiento. La elevada variabilidad en la temperatura dentro de la cámara de secado, tal y como se muestra en la FIGURA 1, junto al hecho de no poder controlar la temperatura alcanzada por las muestras durante la noche podrían explicar estos resultados. En el caso concreto de los tratamientos llevados a cabo con una corriente de aire caliente a 45 °C, la máxima temperatura registrada en las muestras de 2.5 mm de espesor fue de 37 °C, mientras que las muestras de 7 mm de espesor, en las que no hubo crecimiento microbiano, registraron una temperatura máxima de 47 °C durante varias horas. Teniendo en cuenta que temperaturas por encima de 40 °C pueden afectar a la viabilidad de los microorganismos (Salih *et al.*, 2009), podría entenderse que la población de *L. salivarius spp. salivarius*

presente en las rodajas impregnadas se destruyera durante la posterior etapa de secado.

Por último comentar que, aunque no se evaluó de forma instrumental, el color de las muestras deshidratadas mejoró considerablemente con el nuevo procedimiento empleado para preparar la disolución de impregnación.



**FIGURA 1.** Ejemplo de la evolución de la temperatura del secador y de las muestras con respecto al tiempo de secado.

## EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES MECÁNICAS

Tal y como se ha comentado en el apartado de materiales y métodos, las propiedades mecánicas de las muestras deshidratadas se evaluaron mediante un ensayo de punción. Para cada muestra se representó la fuerza (N) en función de la distancia (mm) y se obtuvieron los valores de fuerza máxima (N), distancia que recorre el émbolo hasta la rotura de la muestra (mm) y se calculó el área comprendida bajo la curva (N·mm) (TABLA 5). Según Prothon *et al.* (2001), la fuerza máxima requerida para atravesar la muestra está relacionada con la resistencia del producto a la fractura o firmeza y el área encerrada bajo la curva está relacionada con la energía empleada en romper la muestra.

**TABLA 5.** Efecto de la temperatura de secado y el espesor de las muestras sobre la humedad final y propiedades mecánicas de las mismas

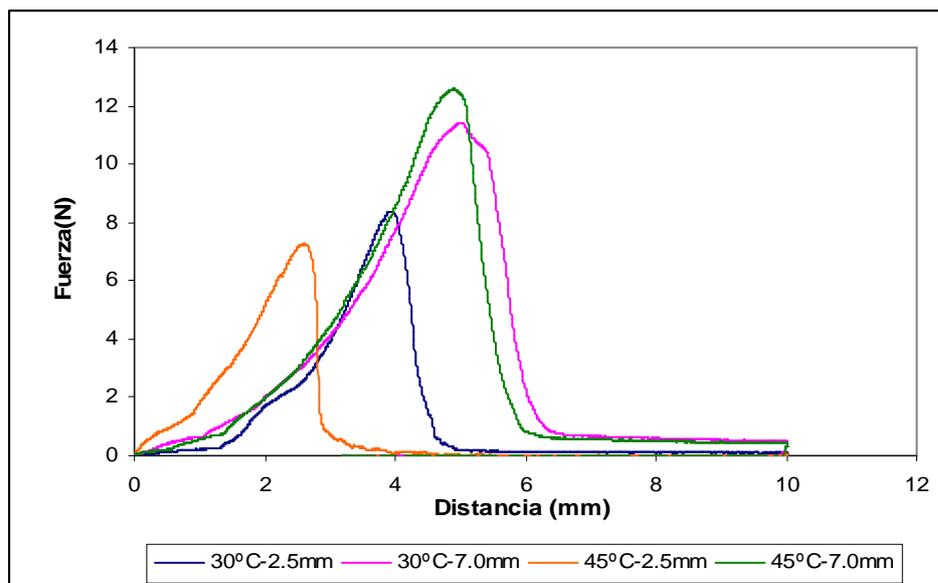
T <sup>a</sup> (°C)	Espesor (mm)	Humedad x <sub>w</sub> <sup>final</sup>	Fuerza (N)	Distancia (mm)	Área (N·mm)
30	2.5	0.089 ± 0.006	10 ± 2	3.8 ± 0.7	18 ± 5
	7.0	0.121 ± 0.009	11,9 ± 1,7	4.3 ± 0.6	27 ± 4
45	2.5	0.051 ± 0.007	7 ± 3	3.1 ± 1.3	12 ± 5
	7.0	0.138 ± 0.017	22 ± 2	4.9 ± 0.8	46 ± 7

Tal y como es posible observar en la TABLA 5, los valores de la fuerza máxima empleada en romper las muestras deshidratadas a una misma temperatura son mayores cuando el espesor de la muestra aumenta.

En relación al efecto de la temperatura de secado sobre la dureza de las muestras, éste se vio afectado por el espesor de las mismas. Así, las muestras de 7 mm de espesor experimentaron un aumento de la fuerza máxima empleada en la rotura con la temperatura, mientras que las muestras de 2.5 mm de espesor disminuyeron su dureza al trabajar a temperaturas más elevadas. Este hecho podría explicarse teniendo en cuenta que las muestras son más frágiles conforme disminuye su contenido en agua. Según esto, las muestras deshidratadas a 45 °C y con un espesor de 7 mm son las que presentaron una mayor dureza.

Con respecto a los demás parámetros determinados la variación de los mismos con la temperatura y el espesor de las muestras fue muy similar al comentado para el caso de la fuerza máxima.

La FIGURA 2 muestra un ejemplo de las curvas fuerza-distancia obtenidas en los ensayos de punción realizados sobre muestras secas a dos temperaturas y con dos espesores diferentes.



**FIGURA 2.** Curvas fuerza-distancia obtenidas en el ensayo de punción de muestras secas.

Como se puede observar, las curvas no presentan múltiples fracturas sino que muestran una abrupta reducción en la fuerza tras una única fractura. Cabe señalar que, de acuerdo a la forma de las curvas, todas las muestras presentaron un comportamiento viscoelástico previo a la fractura con una gran deformabilidad, lo cual podría estar relacionado con el estado gomoso alcanzado en todas las muestras al final del proceso de secado.

Con el fin de comprobar si las diferencias observadas en los valores de fuerza máxima en función de la temperatura de secado y el espesor de las

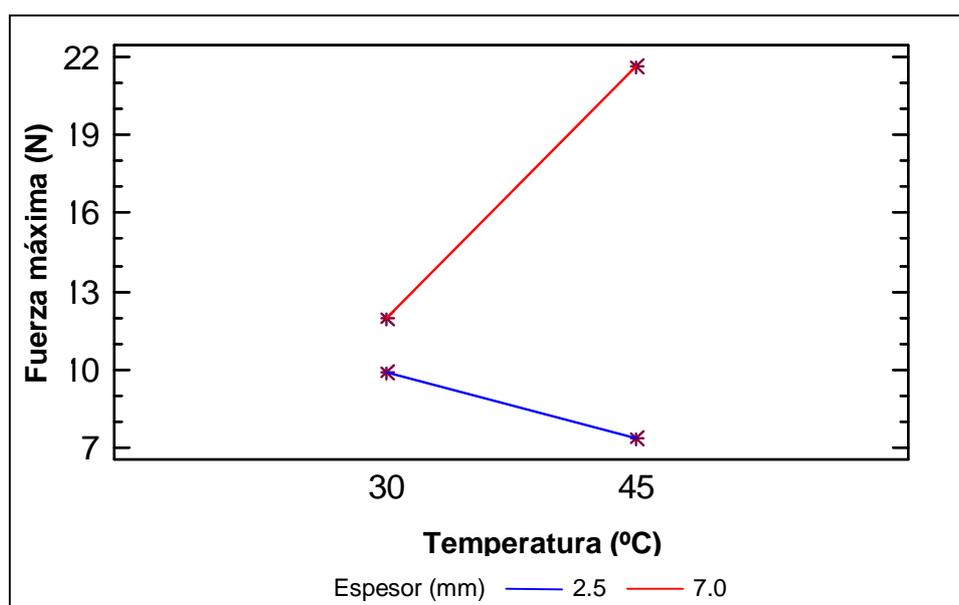
muestras son significativas, se realizó un análisis múltiple de la varianza (TABLA 6).

**TABLA 6.** Análisis de la varianza para la “Fuerza máxima” – Sumas de cuadrados tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Coefficiente F	p-Valor
<b>Efectos principales</b>					
A Temperatura (°C)	303,223	1	303,223	38,88	0,000
B Espesor (mm)	1567,55	1	1567,55	200,98	0,000
<b>Iteracciones</b>					
AB	878,154	1	878,154	112,59	0,000
<b>Residuos</b>	865,745	111	7,79951		
<b>Total</b>	4272,6	114			

Los cocientes F están basados en el error cuadrático medio residual.

El análisis múltiple de la varianza puso de manifiesto que, con un nivel de confianza del 95%, los factores temperatura de secado y espesor de las muestras tienen un efecto estadísticamente significativo sobre la fuerza máxima de rotura. Además, existen interacciones dobles en el modelo, lo que indica que el efecto que la temperatura de secado tiene sobre la fuerza máxima depende del efecto del espesor de las muestras. En la FIGURA 3 se muestra el gráfico de interacción.



**FIGURA 3.** Interacción entre el espesor y la temperatura de secado sobre la fuerza máxima.

## CONCLUSIONES

El hecho de esterilizar únicamente una parte del zumo no afecta de forma negativa al crecimiento del microorganismo *L. salivarius spp. salivarius* y además mejora el aspecto de la fruta deshidratada.

Si bien el secador de bandejas empleado en este estudio permite el procesado de un volumen de muestra suficiente para llevar a cabo posteriores estudios *in vivo*, los recuentos microbianos realizados sobre las muestras deshidratadas revelan que es necesario modificar el mismo para evitar fluctuaciones en la temperatura de secado y garantizar la viabilidad del microorganismo en el producto final.

El análisis de las propiedades mecánicas puso de manifiesto que la firmeza de las muestras secas y la energía empleada en romperlas están íntimamente relacionadas con la humedad final alcanzada. Según esto las muestras más crujientes se obtuvieron al secar discos de manzana de 2.5 mm de espesor a la temperatura de 45 °C.

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Cátedra Fomesa por la concesión de la ayuda económica.

## REFERENCIA

- Alzamora, S.M., Salvatori, D.M., Tapia, M.S., López-Malo, A., Welti-Chanes, J. y Fito, P. (2005). Novel functional foods from vegetable matrices impregnated with biologically active compounds. *Journal of Food Engineering*, 67(1-2): 205-214.
- Anino, S.V., Salvatori, D.M. y Alzamora, S.M. (2006). Changes in calcium level and mechanical properties of apple tissue due to impregnation with calcium salts. *Food Research International*, 39(2): 154-164.
- Arilla, A., 2008. Combinación de las técnicas de impregnación a vacío y secado por aire caliente en la obtención de alimentos probióticos a partir de manzana con efecto contra la infección por *Helicobacter Pylori*. Universidad Politécnica de Valencia. (Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos). Trabajo fin de carrera.
- Barrera, C., Betoret, N. y Fito, P. (2004). Ca<sup>2+</sup> and Fe<sup>2+</sup> influence on the osmotic dehydration kinetics of apple slices (var. Granny Smith). *Journal of Food Engineering*, 65(1): 9-14.
- Betoret, E., Arilla, A., Bennár, M., Betoret, N. y Fito, P. (2009). Combining of vacuum impregnation and hot air drying techniques to obtain a probiotic food from apple (var. *Granny Smith*) with effect against the infection caused by *Helicobacter Pylori*. *Food and Function* 2009, 14-15.
- Betoret, N. (2002). Aplicación de algunas técnicas de ingeniería de alimentos en el desarrollo de alimentos naturales enriquecidos. Universidad Politécnica de Valencia. Tesis Doctoral.
- Betoret, N., Puente, L., Díaz, M.J., Pagán, M.J., García, M.J., Gras, M.L., Martínez-Monzó, J. y Fito, P. (2003). Development of probiotic-enriched dried fruits by vacuum impregnation. *Journal of Food Engineering*, 56(2-3): 273-277.

- Cruchet S., Obregon M.C., Salazar G., Diaz E., Gotteland M., 2003. Effect of the ingestion of a dietary product containing *Lactobacillus johnsonii* La1 on *Helicobacter pylori* colonization in children. *Nutrition*; 19:716-721.
- Fito P., Andrés A., Chiralt A., Pardo P., 1996. Coupling of hydrodynamic mechanism and deformation relaxation phenomena during vacuum treatments in solid porous foodliquid systems. *J Food Eng*; 27: 229-240.
- Fito, P., Chiralt, A., Barat, J.M., Andrés, A., Martínez-Monzó, J. y Martínez-Navarrete, N. (2001a). Vacuum impregnation for development of new dehydrated products. *Journal of Food Engineering*, 49(4), 297-302.
- Fito, P., Chiralt, A., Betoret, N., Gras M., Cháfer, M., Martínez-Monzó, J., Andrés, A. y Vidal, D. (2001b). Vacuum impregnation and osmotic dehydration in matrix engineering. Application in functional fresh food development. *Journal of Food Engineering*, 49(2-3), 175-183.
- Graham, D.Y. y Yamaoka, Y. (2000). Disease-specific *Helicobacter pylori* virulence factors: the unfulfilled promise. *Helicobacter*, 5(Suppl.1): S3-S9.
- Gras, M.L., Vidal, D., Betoret, N., Chiralt, A. y Fito, P. (2003). Calcium fortification of vegetables by vacuum impregnation. Interactions with cellular matrix. *Journal of Food Engineering*, 56(2-3): 279-284.
- Hamilton-Miller, J.M. (2003). The role of probiotics in the treatment and prevention of *Helicobacter pylori* infection. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 22: 360-366.
- Hunt R., Thomson A.B., 1998. Canadian *Helicobacter pylori* consensus conference. *Canadian Association of Gastroenterology*. *Can J Gastroenterol*; 12: 31-41.
- International Dairy Federation (IDF/ FIL), 1992. Physiological and functional properties of probiotics. *Bulletin of the International Dairy Federation*; 272: 17-22.
- Prothon F., Ahrné L., Funebo T., Kidman S., Langton M., Sjöholm I., 2001. Effects of combined osmotic and microwave dehydration of apple on texture, microstructure and rehydration characteristics. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 34, 95-101.
- Salih N.K.M., Hutari A., Gaseem W.S., Yusoff, W.M.W., 2009. Maximation of growth and storage of locally isolated *Lactobacillus salivarius* Subs. *Salivarius* with high stability and functionality. *IFMBE Proceeding*; 24: 175-178.