



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Proceso de obtención de mango biofortificado con microorganismos probióticos mediante la técnica de impregnación a vacío

Pilar Cristina Morantes Guzmán

Universidad Nacional de Colombia – Sede Medellín

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agrarias

Medellín, Colombia

2014

Proceso de obtención de mango biofortificado con microorganismos probióticos mediante la técnica de impregnación a vacío

Pilar Cristina Morantes Guzmán

Tesis o trabajo de investigación presentada(o) como requisito parcial para optar al título de:

Magister en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Director (a):

PhD. Misael Cortes Rodríguez

Codirector (a):

M.Sc. Olga Inés Montoya Campuzano

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agrarias

Medellín, Colombia

2014

(Dedicatoria o lema)

*A mi madre que me ha dado la fortaleza,
sabiduría y paciencia para alcanzar este
logro.*

A mi familia por su apoyo incondicional

Agradecimientos

A mis directores Misael Cortes y Olga Inés Montoya, así como al personal que nos acompaña y nos orienta en el Laboratorio de Control y Calidad de alimentos y el Laboratorio de Microbiología de Aguas y Alimentos de la Universidad Nacional, les agradezco por su apoyo y constante colaboración, en este valioso proceso de aprendizaje.

Al estudiante Diego Alejandro Grajales, Auxiliar Laboratorio de Microbiología de Aguas y Alimentos, quien hace parte del programa de Ingeniería Biológica, por su compromiso con el proyecto, por su responsabilidad y la amistad que me brindó durante este tiempo

Resumen

El consumidor moderno, cada día muestra más preferencia por alimentos sanos y aquellos que pueden contribuir a la prevención de enfermedades. La Ingeniería de Matrices representa una metodología efectiva en el desarrollo de esta gama de alimentos, conocidos como alimentos funcionales.

El objetivo de este trabajo fue desarrollar un producto de mango mínimamente procesado biofortificado con microorganismos probióticos *Lactobacillus casei* (*L. casei*), utilizando la Ingeniería de Matrices.

Inicialmente se evaluó la viabilidad de crecimiento del *L. casei* en soluciones isotónicas de concentración 5 en escala MacFarland: 1) 25% p/p Inulina (I), 2) 14% p/p Glucosa (G), 3) 25% p/p I + 14% p/p G y 4) pulpa de mango (PM), almacenadas a 37 °C bajo condiciones anaeróbicas y con tiempos de control 0, 5, 10 y 15 días. Posteriormente, muestras rectangulares de mango variedad Tommy Atkins (*Mangifera indica*, L), fueron tratadas por impregnación a vacío (IV) con la solución de mayor crecimiento del microorganismo. El proceso IV fue optimizado utilizando la metodología de superficie de respuesta con un diseño experimental tipo D-optima, considerando las variables independientes: [McFarland] (3 – 7) y espesor de lámina (3–7 mm); y las variables dependientes o de respuesta: fracción volumétrica de impregnación en la etapa de vacío y global (X_1 y X m³ solución impregnada/m³ muestra inicial), deformación volumétrica de impregnación en la etapa de vacío y global (γ_1 y γ m³ deformación muestra/m³ muestra inicial), porosidad eficaz del proceso IV (ϵ_e : m³ gas/m³ muestra) y recuento de microorganismos (UFC/g). Un estudio de almacenamiento del mango impregnado con la solución seleccionada empacado a presión atmosférica, se realizó a 4±2 °C durante 15 días, verificando el cumplimiento como fuente de probióticos según los requisitos exigidos en la Resolución 333 de 2011.

Los resultados mostraron que las soluciones evaluadas, presentaron una buena viabilidad de la cepa de *L. casei*, con recuentos por encima de 10^8 UFC/mL, siendo la solución G+I la que presentó el mejor comportamiento al final de los 15 días almacenamiento: $11,6 \pm 0,2 \times 10^8$ UFC/mL. La optimización del proceso IV se alcanzó con una solución 3,0 escala McFarland y un espesor de lámina de 7 mm, siendo la respuesta a la IV: γ_1 ($5,79 \pm 0,03$), γ ($4,76 \pm 0,03$), X_1 ($-7,23 \pm 0,01$), X ($3,23 \pm 0,02$), ϵ_e ($4,10 \pm 0,04$) y UFC/g ($8,02 \pm 0,07 \times 10^8$). El mango mínimamente procesado biofortificado con *L. casei*, alcanzó durante 15 días de almacenamiento un recuento microbiológico de $6,4 \pm 0,1$ ciclos Log UFC/ 150 g mango fresco, lo cual cumple con la declaración de etiquetado nutricional, identificándolo como un producto con probiótico. Por otro lado, el ANOVA reportó diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) en la acidez, pH, fuerza de ruptura, L^* , a^* y b^* del mango biofortificado con respecto al factor tiempo de almacenamiento; mientras que no hubo diferencia ($p > 0,05$) en a_w , y °Brix, siendo los resultados a los 15 días así: acidez ($1,39 \pm 0,09$), pH ($3,13 \pm 0,006$), a_w ($0,98 \pm 0,002$), °Brix ($11,57 \pm 0,40$), fuerza de ruptura ($3,27 \pm 0,97$), L^* ($68,65 \pm 2,73$), a^* ($5,04 \pm 1,67$), b^* ($46,64 \pm 3,49$).

La ingeniería de Matrices, utilizando la técnica IV representa una metodología efectiva para el desarrollo de alimentos funcionales, siendo la matriz del mango Tommy Atkins, una estructura apropiada para la fortificación con compuestos fisiológicamente activos, como lo son los probióticos.

Palabras claves: *Mangifera indica*, Alimentos funcionales, biofortificado, *L. casei*, inulina, impregnación a vacío.

Abstract

Every day, the modern consumer, shows preference for healthy foods and those who can contribute to the prevention of disease. Matrices Engineering represents an effective methodology to develop this range of foods, known as functional foods.

The aim of this work was to develop a product of minimally processed mango biofortified with probiotic microorganisms *Lactobacillus casei* (*L. casei*) using the Engineering Matrices.

Initially the viability of growth of *L. casei* in isotonic solutions of concentration 5 MacFarland scale was assessed: 1) 25% w / w Inulin (I), 2) 14% w / w Glucose (G), 3) 25% w: / p I + 14% w / w G and 4) mango pulp (MP), stored at 37 °C under anaerobic conditions with control times 0, 5, 10 and 15 days. Subsequently, rectangular mango samples variety Tommy Atkins (*Mangifera indica* L) were treated by vacuum impregnation (IV) using the solution with greater growth of the microorganism. The process IV was optimized using response surface methodology with D-optimal experimental design type, considering the independent variables: [McFarland] (3-7) and film thickness (3-7 mm); and the dependent or response variable: impregnation volumetric fraction of both overall and vacuum stage (X_1 and X_2 m³ impregnated solution / m³ initial sample), impregnation volumetric deformation of vacuum and overall stage (γ_1 and γ_2 m³ sample deformation / m³ initial sample), effective porosity of the process IV (ϵ_e : m³ gas / m³ sample) and microbial counts (CFU / g). A study of storage mango impregnated with the selected solution packed at atmospheric pressure was performed at 4 ± 2 ° C for 15 days, verifying compliance as a source of probiotics according to the requirements of Resolution 333 of 2011.

The results showed that evaluated solutions showed good viability of the strain of *L. casei*, with counts above 10^8 CFU / mL, being G + R solution the one that presented the best performance at the end of the 15 days storage: $11.6 \pm 0.2 \times 10^8$ CFU / mL. Process IV optimization is achieved with a 3.0 McFarland scale solution and a film thickness of 7 mm, being the response to the IV: γ_1 (5.79 ± 0.03), γ (4.76 ± 0.03), X_1 (-7.23 ± 0.01), X (3.23 ± 0.02), ϵ_e (4.10 ± 0.04) and CFU / g ($8.02 \pm 0.07 \times 10^8$). The minimally processed biofortified mango with *L. casei*, reached during 15 days of storage a microbiological count 6.4 ± 0.1 cycles log CFU / 150 g fresh mango, which fulfills the declaration of nutrition labeling, identifying it as a probiotic product. Furthermore, ANOVA reported statistical differences ($p < 0.05$) in acidity, pH, shear force, L^* , a^* and b^* of biofortified mango versus time of storage factor; while there was no difference ($p > 0.05$) in a_w , and °Brix, with results at 15 days as well: acidity (1.39 ± 0.09), pH (3.13 ± 0.006), a_w (0.98 ± 0.002), °Brix (11.57 ± 0.40), shear force ($3,27 \pm 0,97$), L^* ($68,65 \pm 2,73$), a^* ($5.04 \pm 1,67$), b^* ($46,64 \pm 3,49$).

Matrices engineering, using the technique IV represents an effective methodology for developing functional foods, being the Tommy Atkins mango matrix, an appropriate structure for fortification with physiologically active compounds, such as probiotics.

Keywords: *Mangifera indica*, Functional Foods, biofortification, *L. casei*, inulin, vacuum impregnation

.

Contenido

	Pág.
Lista de figuras.....	XIV
Lista de tablas	XV
Introducción	1
Interés del estudio	1
Generalidades del mango.....	3
El fruto de mango y su comercialización.	3
Alimentos funcionales (AF)	6
Metodologías para la elaboración de alimentos funcionales.....	7
Probióticos.....	11
Bacterias ácido lácticas (BAL).	12
Prebióticos.....	14
Objetivos.....	16
Objetivo general	16
Objetivos específicos	16
1. Capítulo I.....	17
Introducción.....	19
1.1. Materiales y métodos.....	22
1.1.1 Materias primas	22
1.1.2 Selección de la solución de impregnación vehiculizantes de L. casei	22
1.2. Proceso IV.....	24
1.3. Almacenamiento de mango biofortificado.....	24
1.4. Caracterización fisicoquímica y física.....	25
1.5. Resultados y discusión	26
1.5.1 Caracterización del mango fresco	26
1.5.2 Obtención de la solución de impregnación vehiculizante del BAL.....	27
1.6 Proceso IV	33
1.6.1 Optimización del proceso IV.....	39
1.6.2 Almacenamiento.....	40
2. Conclusiones y recomendaciones.....	45
2.1 Conclusiones	45
2.2 Recomendaciones	46
Bibliografía de la introducción	59

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1 Países importadores y exportadores del fruto de mango para el quinquenio 2007-2011. Fuente: (Asociación hortifrutícola de Colombia, 2013).....	4
Figura 2. Producción de mango en Colombia: 2010-2011.....	5
Figura 3. Tendencia de los artículos relacionados con AF en el tiempo. Fuente: Betoret, <i>et al.</i> , 2011	8
Figura 4. Principales actores en la obtención de un alimento funcional. Fuente: Bigliardi, y Galati, (2013).....	9
Figura 5. Metodología para la selección de la solución vehículo de impregnación	23
Figura 6 . Recuento (UFC/mL) de <i>L. casei</i> en las soluciones de impregnación G+I+ <i>L. casei</i> , G+ <i>L. casei</i> , I+ <i>L. casei</i> y PM+ <i>L. casei</i> , a 37°C y 15 días de almacenamiento	27
Figura 7. Características fisicoquímicas a_w , °Brix, densidad, % acidez y pH de los tratamientos evaluadas durante 15 días de almacenamiento a 37°C	30
Figura 8. Microscopias SEM en la solución de G+ I inoculada con <i>L. casei</i> a diferentes aumentos: (a) 22000; (b) 35000; (c) 10000 y (d) 20000.....	32
Figura 9. Superficie de respuesta para maximización de <i>L. casei</i> para el proceso IV bajo las concentraciones y los espesores evaluados.	38
Figura 10 . Valores medios con los intervalos LSD (95%) de los parámetros fisicoquímicos y físicos en mangos biofortificados con <i>L. casei</i> durante el almacenamiento.	41
Figura 11. Recuento de UFC/g del mango impregnado durante el almacenamiento	43

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1. Valor nutricional del mango	3
Tabla 2 Volumen del comercio internacional del mango.....	5
Tabla 3. Microorganismos probióticos	12
Tabla 4. Propiedades funcionales de la inulina y sus derivados	15
Tabla 5. Caracterización del mango fresco, variedad Tommy Atkins.....	26
Tabla 6. Respuesta a la IV del mango Tommy Atkins con la solución G+I+ <i>L. casei</i> , obtenida bajo las diferentes geometrías evaluadas y [McFarland].....	35
Tabla 7. Resultados del ANOVA en el proceso de optimización del proceso IV en mango biofortificado con <i>L. casei</i>	36
Tabla 8. Validación del modelo de optimización en el proceso IV de mango impregnado con <i>L.casei</i>	39
Tabla 9 Valores-p obtenido para las variables fisicoquímicas y físicas	42

Introducción

Interés del estudio

El presente trabajo de investigación corresponde al desarrollo de un producto de mango mínimamente procesado e impregnado en una solución de inulina enriquecida con *Lactobacillus casei*, con una concentración mayor que 10^6 UFC/ 150 g de mango fresco. Este producto alimenticio se enmarca dentro de la gama de los alimentos funcionales (AF), aportando al sector agroindustrial del mango, una base tecnológica innovadora que permite la obtención de un producto fresco con excelentes atributos de calidad y con un posible potencial de prevención de enfermedades en la población.

El mango es una de las frutas más apetecidas por la población por sus excelentes propiedades nutricionales, sabor, color y aromas. El Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural MADR, formuló la Agenda Exportadora 2013, en el cual participaron diferentes actores del sector, con el objeto de priorizar los productos promisorios exportables. Dentro de las dieciséis especies de frutas seleccionadas, se encuentra el mango por ser la especie de fruta que a nivel mundial ha mostrado una tendencia creciente y sostenida de demanda en los últimos quince años Bonilla, Toro y Mejía (2010). El análisis del diagnóstico del sector agroalimentario plantea oportunidades claras para esta fruta, según informe publicado por Asohofrucol y el Fondo Nacional de Fomento Hortofrutícola (Asociación hortifrutícola de Colombia, 2013)

Los AF, ejercen un efecto positivo en la salud del individuo más allá de los efectos nutricionales básicos (Rodríguez, Megías y Baena, 2003; Roberfroid, 2000) y representan en la actualidad, la gama de alimentos de mayor interés en la población, por sus beneficios saludables, destacándose entre ellos, los alimentos con microorganismos probióticos, como el *Lactobacillus casei*, los cuales tienen una serie de propiedades

bioquímicas, como producción de bacteriocinas, ácidos orgánicos y equilibran el sistema inmunológico, entre otros. Para alcanzar estos beneficios, los científicos recomiendan consumir AF como parte de una dieta diaria (Castro y Rovetto, 2006; Verbeke, 2005; Rodríguez *et al.*, 2003).

Entre los microorganismos probióticos se encuentran una serie de géneros microbianos, entre ellos los lactobacilos que conforman el grupo de las bacterias ácido lácticas (BAL), más utilizadas en la producción de alimentos para consumo humano (Prado, Parada, Pandey y Soccol, 2008); González-Martínez, Gómez-Treviño y Jiménez-Salas, 2003) La cepa comercial de *Lactobacillus casei* (ATTC 393) se caracteriza por ser genéticamente estable, capaz de alcanzar el intestino humano y multiplicarse sin producir daños al huésped (Barrentxe, Aranguren, Martínez-Peñuela, Marzo y Urdaneta, 2008), con lo cual puede mejorar las funciones gastrointestinales al aumentar la absorción y el aprovechamiento de nutrientes, la integridad y el desarrollo de la mucosa intestinal, generar un aumento de la tolerancia a la lactosa, disminuir o mejorar la resolución de procesos alérgicos, (Pereira, Maciel y Rodrigues, 2011; De Preter, Hamer, Windey y Verbeke, 2011; Teitelbaum y Walker, 2002), y en sumatoria una mejora en la calidad de vida.

La técnica de impregnación a vacío (IV) ha sido ampliamente utilizada para el desarrollo de alimentos funcionales, incorporando componentes con actividad fisiológica (CFA) al interior de su estructura (Shah y Nath, 2008; Anino, Salvatori, y Alzamora, 2006; Alzamora, Salvatori, Tapia, López-Malo, Welti-Chanes y Fito, 2005; Zhao y Xie, 2004; Gras, Vidal, Betoret, Chiralt, y Fito, 2003; Gras, Vidal-Brotóns, Betoret, y Fito, 2002).

En la sociedad actual, los consumidores tienen amplio acceso a la información nutricional y sanitaria, lo cual ha generado un creciente interés en productos frescos de mayor valor nutricional, saludables y naturales, que contribuyan como terapias preventivas para mejorar su salud. Dadas estas circunstancias, se genera un compromiso con la sociedad, desde las universidades, empresas, estado, entre otros; para contribuir en el desarrollo de nuevos productos (principalmente alimentos funcionales), que impriman valor agregado y mayor competitividad a las cadenas productivas.

Generalidades del mango

El fruto de mango y su comercialización.

La clasificación taxonómica del mango de acuerdo a Kosterman y Bompard (1993) es la siguiente: Clase *Dicotiledóneas*; Subclase *Rosidae*; Orden *Sapindales*; Suborden *Anacardineae*; Familia *Anacardiaceae*; Género *Mangifera*; Especie *M. indica*. Es un fruto carnoso, de colores atractivos, delicioso sabor y excelentes propiedades nutricionales, lo que a nivel mundial, es de gran aceptación. Tuvo su origen en la India donde ha sido cultivado desde 2000 años a. C. En 1779 fue introducido a México; siendo este el principal productor y exportador, sobre todo hacia los Estados Unidos (Sergent, 1999). En la Tabla 1 están reportados los valores nutricionales, se puede apreciar su alto contenido de vitaminas y minerales (Briceño, Zambrano, Materano, Quintero, y Valera, 2005; Mosqueda-Vázquez, de los Santos, Becerra-Leor Cabrera-Mireles, Ortega-Zaleta y Ángel-Pérez, 1996)

Tabla 1. Valor nutricional del mango

Nutriente	Cantidad
Calorías	63.7 K/cal
Proteínas	0.40 g
Humedad	82.8 g
Hidratos de carbono	17.18 g
Fibra	1.06 g
Calcio	12.8 mg
Fósforo	17.9 mg
Hierro	0.63 mg
Vitamina A	1.87 mg
Ácido ascórbico	172 mg

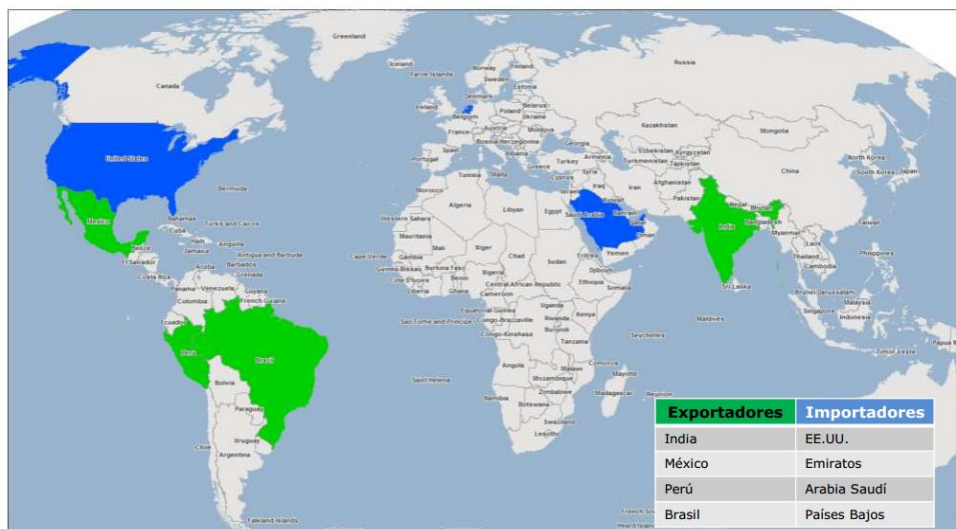
El mango es un producto climatérico, altamente perecedero, debido principalmente a la actividad de las enzimas de degradación (p.e. poligalacturonasa y celulasa), que se activan en el período de maduración provocando la reducción del contenido de fibra

dietética (El-Zoghbi, 1994) y el ablandamiento de la fruta (Labib, El-Ashwah, Omran, y Askar, 1995), acortando el periodo de vida útil, por lo que debe ser consumido rápidamente después de su cosecha (Domínguez, 2006).

Desde esta perspectiva, resulta esencial para la cadena productiva del mango, generar estrategias y planes de acción que le permitan encaminarse primero hacia un aprovechamiento integral, sostenible y competitivo de su producción, seguido de una consolidación de sus productos tradicionales en el mercado nacional e internacional, y a la diversificación de nuevos alimentos con un mayor valor agregado en búsqueda del fortalecimiento y generación de ventajas competitivas.

Los países más productores de mango según el informe de la FAO para el 2010 son la India y la China. La India presenta la mayor producción mundial de mango con el 40% de la cosecha total (11,6 millones de toneladas métricas). La figura 1 ilustra la distribución de países exportadores e importadores en el mundo, durante el periodo 2007 - 2011.

Figura 1 Países importadores y exportadores del fruto de mango para el quinquenio 2007-2011. Fuente: (Asociación hortifrútcicola de Colombia, 2013).



La Tabla 2 presenta el volumen del comercio internacional del mango, indicando una tendencia constante y creciente, previéndose un aumento del mismo hasta llegar a superar los 1.798 millones de dólares para el año 2029 (Bonilla *et al.*, 2010).

Tabla 2 Volumen del comercio internacional del mango.

Comercio Internacional	2008	2009	2010	2011	Potencial 2014	Potencial 2019	Potencial 2024	Potencial 2029
Miles US\$								
Total Mango	1.063.949	1.134.510	1.269.364	1.508.624	1.559.917	1.644.153	1.723.072	1.798.887
Mango orgánico	851	908	1.015	1.207	1.248	1.315	1.378	1.439

Fuente: (Asociación hortifrutícola de Colombia, 2013)

En Colombia la superficie de plantación de mango, ha mantenido la misma tendencia en la última década, aproximadamente 11.908 hectáreas y una producción de 981.686 toneladas por año (MADR, 2011), por lo que es posible producir mango durante la mayor parte del año; aunque, se presentan dos picos de oferta: una de mayo hasta agosto y la otra de noviembre hasta enero (www.cundinamarca.gov.co). La Figura 2 muestra el comportamiento de la Producción de mango en el período 2010-2011. Fuente: Resultados Evaluaciones Agropecuarias Municipales 2011. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural.

Figura 2. Producción de mango en Colombia: 2010-2011.

DEPARTAMENTO	CULTIVO	2010			2011			
		Rend (Kg/ha)	Area (Ha)	Produc. (T)	Rend (Kg/ha)	Area (Ha)	Produc. (T)	Rend (Kg/ha)
Amazonas	MANGO							
Antioquia		6.775	2.128	13.926	6.544	1.710	12.821	7.498
Atlántico		13.236	584	7.390	12.654	623	7.736	12.417
Bolívar		15.483	1.082	14.575	13.470	1.169	16.125	13.794
Boyacá		4.783	65	305	4.692	52	185	3.558
Caldas		4.200	80	336	4.200	85	357	4.200
Cauca		7.942	311	2.576	8.283	245	2.078	8.482
Cesar		9.801	630	6.070	9.635	664	6.162	9.280
Córdoba		10.957	500	8.086	16.172	480	6.991	14.565
Cundinamarca		8.969	7.628	66.970	8.779	7.752	68.116	8.787
La Guajira		5.266	295	1.529	5.183	296	1.483	5.010
Huila		8.693	137	1.210	8.832	156	1.388	8.897
Magdalena		10.689	2.267	27.052	11.933	2.287	25.334	11.077
Nariño		6.009	91	650	7.143	83	519	6.253
Norte Santander		12.923	13	168	12.923	18	189	10.500
Santander		7.459	52	225	4.327	57	265	4.649
Sucre		7.348	10	64	6.400	7	113	16.143
Tolima		22.732	2.623	47.752	18.205	2.699	69.068	25.590
Valle del Cauca		9.438	137	1.138	8.307	135	970	7.185
Vichada		5.455	39	975	25.000	53	1.110	20.943
TOTAL	MANGO	12.227	18.680	201.029	10.762	18.575	221.015	11.899

En la industria alimentaria, ha crecido el interés por esta fruta, y se han reportado, varias investigaciones para el desarrollo de nuevos productos a base de mango (Ostos, Díaz y Suarez, 2012; Villamizar, Quinceno y Giraldo, 2011; Ajila, Leelavathi y Prasada Rao,

2008; Vergara-Valencia, Granados-Pérez, Agama-Acevedo, Tovar, Ruales y Bello-Pérez, 2007; Giraldo, Vázquez, Martín-Esparza, y Chiralt, 2006; Cano-Chauca, Stringheta, Ramos y Cal-Vidal, 2005; Giraldo, Talens, Fito y Chiralt, 2003).

Alimentos funcionales (AF)

No existe una definición exacta sobre los alimentos funcionales; sin embargo, varios autores coinciden que es un alimento que contiene componentes con funciones benéficas fisiológicas sobre el organismo y que pueden mejorar el estado de salud al ser consumidas de manera regular (Castro y Rovetto, 2006; Anino *et al.*, 2006; Rodríguez *et al.*, 2003; Yu, Kogan, y Huang, 2002; Arai, 2000; Milner, 2000; Roberfroid, 2000a).

En el contexto nacional e internacional, se encuentran en el mercado una serie de productos que se enmarcan dentro de la gama de los AF (Russell, Drake y Gerard, 2006; Friedeck, Aragul-Yuceer y Drake, 2003), que incluyen alimentos fortificados, enriquecidos, adicionados, reducidos; que ayudan al metabolismo de sustancias; con bajo contenido energético (bajos en grasas o en azúcares); que favorecen a mantener un peso adecuado; que controlan el nivel de azúcar en sangre y las tasas de colesterol y triglicéridos plasmáticos, reduciendo el riesgo de enfermedades cardiovasculares; permiten un adecuado rendimiento en la práctica de actividad física; la defensa contra el estrés oxidativo; ayudan en la prevención de enfermedades degenerativas e incluso el cáncer; regulan el tránsito intestinal; el sistema inmunológico; las funciones psicológicas y de conducta, están relacionadas con el apetito y la sensación de saciedad, el rendimiento cognitivo, el humor o tono vital y el manejo del estrés con los alimentos enriquecidos en fibra, con sustancias excitantes (cafeína, ginseng, etc.) o tranquilizantes extraídas de plantas, etc (Arihara, 2006; Quílez *et al.*, 2003; Reichert, 2002; Schieber *et al.*, 2001; Hollingsworth *et al.*, 2000; Jenkins *et al.*, 2000; Imai *et al.*, 1996).

Metodologías para la elaboración de alimentos funcionales.

Para la elaboración de alimentos funcionales existen diversas metodologías, las cuales han variado a través de los años, según las tendencias del consumidor y el avance en el desarrollo tecnológico. Dentro de éstas tecnologías están la ingeniería genética, técnicas de cría y cultivo, incorporación a granel y la ingeniería de matrices (Cortés *et al.*, 2005).

- Ingeniería genética.

Gracias a la ingeniería genética se pueden desarrollar productos con cambios perdurables en el tiempo y modificaciones genéticas que permiten obtener alimentos con características específicas que le brindan un valor agregado al alimento (Costanigro y Lusk, 2014; Sheng *et al.*, 2014; Carlsson *et al.*, 2014; Maheshwari, y Kovalchuk, 2014)

- Técnicas de cría y cultivo.

Son las modificaciones en las técnicas de cultivos vegetales y en la cría de animales con el fin de generar productos finales con propiedades adicionales a las del producto original. (Pavelek *et al.*, 2012; Zhao y Shewry, 2011)

- Incorporación a granel.

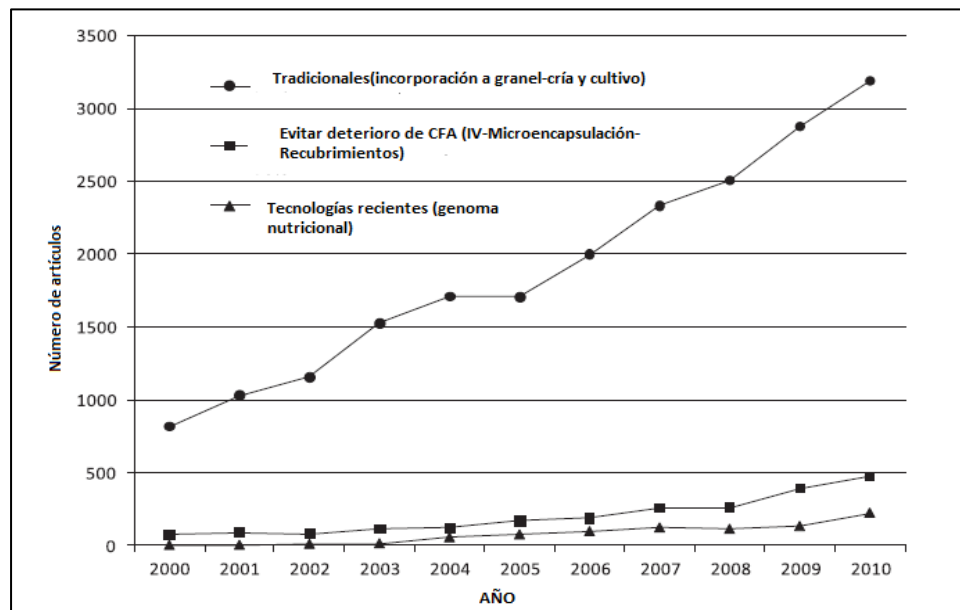
Es la técnica más aplicada en la industria de alimentos para la formulación de productos fortificados y enriquecidos. Esta técnica consiste en la producción de una mezcla homogénea con nutrientes a adicionar en las cantidades deseadas, las cuales son obtenidas a partir de un estudio completo del procesamiento a seleccionar para la adición de éstos nutrientes. En la industria alimentaria esta técnica se aplica en alimentos como el azúcar, harinas, productos lácteos, aceites vegetales, las margarinas, las bebidas y los alimentos líquidos (Cortés *et al.*, 2005)

- Ingeniería de matrices.

Forma parte de la ingeniería de alimentos y utiliza los conocimientos sobre composición, estructura y propiedades de la matriz alimentaria con el fin de obtener un producto con mejores propiedades estructurales y sensoriales (Chiralt *et al.*, 1999).

Betoret, *et al.*, 2011, han propuesto una nueva clasificación de tecnologías para la elaboración de alimentos funcionales, basados en las tendencias de los artículos de investigación desde el año 2000 hasta el 2010. Esta nueva clasificación abarca las metodologías tradicionalmente usadas y propone el uso de tecnologías emergentes. La Figura 3 muestra la tendencia de los artículos de investigación relacionados con alimentos funcionales desde el año 2000 hasta el año 2010.

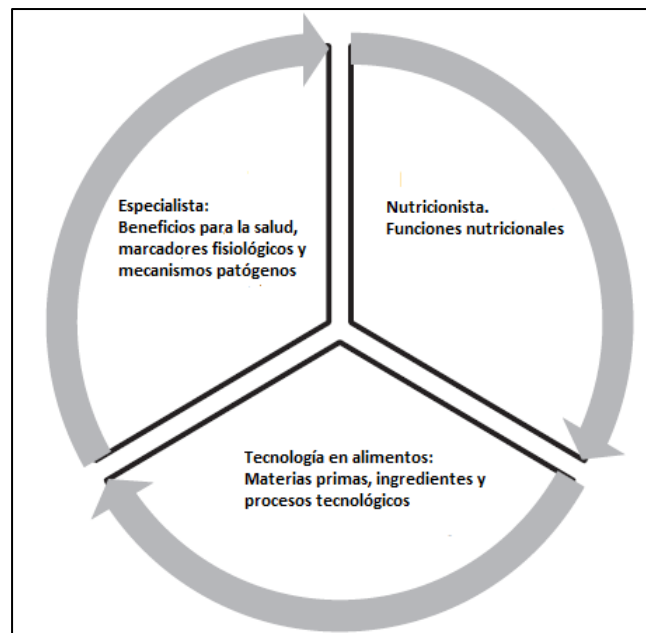
Figura 3. Tendencia de los artículos relacionados con AF en el tiempo. Fuente: Betoret, *et al.*, 2011



La tendencia al incremento del consumo de los alimentos funcionales y suplementos alimenticios en la mayoría de los países, es consecuencia de las costumbres alimenticias del consumidor actual, las cuales han variado debido a los cambios en los hábitos alimenticios, la actitud del consumidor, el desarrollo y avance en la producción y oferta de alimentos funcionales, entre otros (Cortés *et al.*, 2005). Es por esto que las empresas

fabricantes de alimentos han renovado sus catálogos de productos como consecuencia del potencial de mercado observado en la producción de alimentos funcionales. Los investigadores han propuesto los conceptos de salud, tecnología y nutrición como los pilares para la producción de AF, sin dejar a un lado los estándares de calidad exigidos por el consumidor actual (Bigliardi y Galati, 2013; Khan *et al.*, 2013). La Figura 4 representa los actores principales en la obtención de un alimento funcional.

Figura 4. Principales actores en la obtención de un alimento funcional. Fuente: Bigliardi, y Galati, (2013).



La técnica utilizada por la ingeniería de matrices es la impregnación a vacío, la cual se aplica en matrices alimentarias porosas con el fin de desarrollar productos mínimamente procesados. Esta técnica modifica la estructura y composición química de la matriz alimentaria, como consecuencia de una transferencia de masa. El IV ha sido descrito por (Fito, 1994; Fito y Pastor 1994), como un proceso de transporte de materia en un sistema sólido –líquido, mediante la acción del mecanismo hidrodinámico (HDM). Como consecuencia de estos cambios de presión sujetos al mecanismo hidrodinámico, la matriz alimentaria sufre alteraciones en su estructura, presentándose fenómenos de deformación–relajación (DRP) en la matriz del alimento poroso.

Se representó matemáticamente el comportamiento del conjunto HDM-DRP y se encontraron cambios en el volumen del producto una vez concluidos los procesos de vacío y presión atmosférica (Martínez-Monzó *et al.*, 1998; Fito *et al.*, 1996)

La ecuación que describe la relación entre la fracción volumétrica de líquido incorporado (X) por medio del HDM, la porosidad eficaz de la matriz (ε_e), las deformaciones volumétricas de la estructura del producto al concluir el proceso de vacío (γ_1) y al final del proceso (γ) y la relación de compresión $r = P_{\text{atm}} / P_{\text{vacío}}$.

$$\varepsilon = \frac{(X - \gamma) r + \gamma_1}{r - 1} \quad (\text{Ecuación 1}).$$

La microestructura y las propiedades mecánicas del sólido, al igual que la viscosidad de la solución externa (Fito *et al.*, 1996; Chiralt *et al.*, 1999) repercuten en la interacción entre los procesos del HDM-DRP. Varios estudios han sido realizados en diferentes matrices de frutas con disoluciones isotónicas con el propósito de establecer el comportamiento de la porosidad efectiva (ε) (Restrepo y Rojano 2009; Atarés *et al.*, 2008; Mujica-Paz *et al.*, 2003; Betoret *et al.*, 2003)

Factores como la composición y estructura del tejido, el tiempo de relajación de la matriz sólida, tamaño y forma de la muestra, la velocidad del flujo del gas y del líquido durante la acción del HDM y la viscosidad de la solución afectan el proceso de impregnación a vacío (Derossi *et al.*, 2010 Martínez-Monzó, 1998).

El proceso de impregnación a vacío ha sido de gran importancia en la industria de los alimentos para el desarrollo de AF, ha sido aplicado para la impregnación de solutos en varias matrices alimenticias, procesos de deshidratación, incorporación de crioprotectores o crioprotectores, incorporación de compuestos fisiológicamente activos (CFA), incorporación de compuestos antioxidantes y conservantes, desarrollo de productos a partir de corteza de cítricos.

En los procesos de salado de quesos, pescados y productos cárnicos esta técnica ha sido de gran importancia porque permite eliminar los grandes depósitos de salmuera generando menores vertidos de residuo (Crosa *et al.*, 2011; Chiralt *et al.*, 2001b)

Asimismo el proceso IV ha sido utilizado en frutas y hortalizas como tratamiento previo en procesos de deshidratación (Schulze *et al.*, 2014; Giraldo *et al.*, 2003; Chafer *et al.*, 2001), para favorecer la ganancia de solutos, incorporación de CFA y de crioprotectores o crioprotectores (Panarese *et al.*, 2014; Hironaka *et al.*, 2014; Sanzana *et al.*, 2011; Marín *et al.*, 2010; Restrepo *et al.*, 2010; Puente *et al.*, 2009; Zhao y Xie 2004)

Esta técnica representa una alternativa para el aprovechamiento de subproductos en la industria, varias investigaciones están enfocadas en la de corteza de algunos cítricos (Chafer *et al.*, 2003; Chafer *et al.*, 2001)

Probióticos

En Colombia la Resolución 333 del 2011, establece en el artículo 3 la definición para declarar un producto en su etiquetado nutricional como fuente de probióticos. La FAO y la OMS han definido a los probióticos como organismos vivos que ingeridos en cantidad adecuada confieren un beneficio saludable en el huésped. En esta denominación se incluyen, además, de los microorganismos que fermentan el yogur (*Lactobacillus delbrueckii* sub *bulgaricus* y *Lb. Acidophilus Streptococcus thermophilus*), los de otras leches fermentadas de nueva generación (*Lactobacillus casei immunitas*) (Barrentxe *et al.*, 2008; Grajek *et al.*, 2005; Gill y Guarner, 2004). Los anteriores géneros bacterianos hacen parte de las bacterias ácido lácticas, que ejercen similares acciones saludables en el organismo: equilibran la flora intestinal y potencian el sistema de defensas o inmunológico (Pereira *et al.*, 2011; Gill y Guarner, 2004; Tuhoy *et al.*, 2003; Salmínen y Von Wright, 1998).

Para que un microorganismo pueda ser considerado como probiótico los criterios de selección son: ser una cepa segura, no patógena, ni toxigénica, permanecer viable y estable durante uso y depósito, ser capaz de sobrevivir el paso por el tracto digestivo y a su vez tener la habilidad de vivir en el ecosistema intestinal, ser capaz de adaptarse a la flora intestinal fisiológica del huésped, ser capaz de adherirse a las células epiteliales, entre otros (Champagne *et al.*, 2005; Teitelbaum y Walker, 2002). Entre los efectos benéficos atribuidos a los probióticos destacan, reducir los efectos de la intolerancia a la

lactosa, prevención y tratamiento de diarrea (asociadas con rotavirus y uso de antibióticos), disminución de enterocolitis necrotizante, disminución y prevención de enfermedades alérgicas, infecciones urinarias y colonización por *Helicobacter pylori*, y en la prevención de tumores y cáncer colorectal (Ishikawa *et al.*, 2005; Cross, 2002; Teitelbaum y Walker, 2002; Ohashi *et al.*, 2002; Asahara *et al.*, 2001; Takahashi *et al.*, 2001; Yamazaki *et al.*, 2000).

Una vasta proporción de alimentos probióticos se asocian a alimentos derivados lácteos, de los cuales las personas intolerantes a la lactosa no pueden beneficiarse. Desde este punto de vista la investigación en la generación de probióticos no lácteos toma importancia para la industria de alimentos (Pereira *et al.* 2011; Rivera-Espinoza y Gallardo-Navarro, 2010; Giraffa *et al.*, 2010), como una alternativa para una población cada vez mayor y sin limitantes para su consumo.

Bacterias ácido lácticas (BAL).

Son un grupo amplio de bacterias con la característica común de producir ácido láctico como principal producto final del metabolismo. La Tabla 3 presenta los microorganismos probióticos más comúnmente usados en la agroindustria, y las principales especies de BAL.

Tabla 3. Microorganismos probióticos

Especies de Lactobacillus	Especies de Bifidobacterias	Otros
<i>L. Acidophilus</i>	<i>Bf. Adolescentes</i>	<i>Bacillus Cereus</i>
<i>L. Amylovorus</i>	<i>Bf. Animalis</i>	<i>Clostridium botyricum</i>
<i>L. Brevis</i>	<i>Bf. Breve</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>L. Casei</i>	<i>Bf. Bifidum</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>L. Casei sp. rhamnosus</i>	<i>Bf. Infantis</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>L. Crispatus</i>	<i>Bf. Lactis</i>	<i>Lactococcus lactis sp. Cremoriss</i>

<i>L. Delbrueckii.sp bulgaricus</i>	<i>Bf. Longum</i>	<i>Lactococcus lactis sp. Lactis</i>
<i>L. Fermentum</i>		<i>Leuconostoc mesenteroides sp. Dextranicum</i>
<i>L. Gasseri</i>		<i>Pediococcus acidilactici</i>
<i>L. Helveticus</i>		<i>Propionibacterium</i>
<i>L. Johnsonii</i>		<i>Freudenreichii</i>
<i>L. Lactis</i>		<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>L. Paracasei</i>		<i>Streptococcus salivarius s. thermophilus</i>
<i>L. Plantarum</i>		
<i>L. Reuteri</i>		

Fuente: Prado *et al.*, 2008.

Las BAL, han sido empleadas en la industria farmacéutica dadas sus múltiples propiedades benéficas (Hori, 2009; González *et al.*, 2003). En la industria alimenticia, son utilizadas como conservadores biológicos por la producción de bacteriocinas que ejercen acción antibacteriana y contribuyen a la prevención de la descomposición de alimentos. Asimismo, aportan nutrientes a los productos alimenticios (vitaminas y proteínas) y aumentan la biodisponibilidad de algunos minerales (Pophaly *et al.*, 2014; Coda *et al.*, 2011; González *et al.*, 2003), a un costo relativamente bajo.

Los efectos probióticos de las BAL se pueden categorizar de la siguiente manera: efectos sobre el intestino delgado y la digestión, modificación directa de la microflora del colon y su metabolismo, y efectos generales que se inician en el colon (Prado *et al.*, 2008; Parvez *et al.*, 2006; Harish y Varghese, 2006). Estudios reportados por pediatras confirman la importancia de los AF probióticos en la salud infantil en el tratamiento y prevención enfermedades gastrointestinales, dermatitis atópicas, enterocolitis, entre otras (Kligler *et al.*, 2007; Grajek *et al.*, 2005; Young y Huffman, 2003; Rosenfeldt *et al.*, 2003).

Prebióticos

Los prebióticos son componentes con actividad fisiológica que se encuentran en los alimentos, que resisten la digestión en el intestino delgado y son susceptibles de ser fermentadas por la flora bacteriana del intestino grueso, ejerciendo un efecto favorable sobre la misma e indirectamente sobre nuestro cuerpo (De Preter *et al.*, 2011).

Entre los prebióticos hay diferentes tipos de fibra: soluble, lignina y oligosacáridos no digeribles, por ejemplo los fructooligosacáridos (Teitelbaum y Walker, 2002), que se añaden a productos como leche, yogures, flanes y margarinas. Estos compuestos son sustrato de las bacterias que colonizan el intestino grueso, originando ácido láctico y ácidos grasos de cadena corta, que estimulan el crecimiento de las bifidobacterias y equilibran la flora intestinal (Parvez *et al.*, 2006; Roberfroid, 2002; Roberfroid, 1998).

Muchos tipos de fibra insoluble han sido empleados en la última década como medio de combinación simbiótica para introducir y nutrir bacterias vivas benéficas al colon de seres humanos y animales domésticos. Este tipo de fibras se conoce con el nombre de prebióticos, el cual es un ingrediente fermentable que permite cambios específicos en composición y/o actividad en la microbiota gastrointestinal que confiere beneficios al hospedero en su estado de salud (De Preter *et al.*, 2011; Vergara-Valencia *et al.*, 2007; Grajek *et al.*, 2005; Gibson *et al.*, 2004; Jenkins *et al.*, 2000).

La inulina es un fructano no digestible, fermentable, reconocido como agente prebiótico y supresor de algunas bacterias patógenas y alterantes de la microflora intestinal (Glibowski *et al.*, 2014; Kajiwara *et al.*, 2002). La inulina ha sido empleada como aditivo de fuente de fibra microbiana y al ser humano en varios estudios (Chaito, Judprasong y Puwastien, 2014; Rodríguez, Granada y Cruz, 2011)

A la inulina se le atribuyen propiedades benéficas para la salud como la propiedad de agente prebiótico, la cual posee la capacidad de estimulación de las bifidobacterias y lactobacilos en el colon, el fortalecimiento del sistema inmunológico, el mejoramiento en la asimilación de las grasas y azúcares en la sangre y la absorción de algunos minerales (Stephen *et al.*, 2010; Camire *et al.*, 2001). Asimismo, al ser un fructano tiene la propiedad de aportar 1,5Kcal/g, que al ser comparada con los carbohidratos digeribles

que aportan 4Kcal/g, le permite ser una alternativa de consumo, que al ser sumado con su propiedad de disminuir los niveles de glucosa en la sangre lo vuelven un producto recomendable para pacientes con diabetes (Roberfroid M. 1999).

En la industria, la inulina ha sido utilizada en la elaboración de material farmacéutico, como ingrediente en detergentes, desarrollo de yogures, productos cárnicos y empaques bioactivos, entre otros (Muñoz Ohmen *et al.*, 2014; Muñoz Ohmen *et al.*, 2012; Villalobos *et al.*, 2010; Ramírez-Suomi *et al.*, 2009; Castor L. 2007; García *et al.*, 2007; Bustamante *et al.*, 2006; Lopez-Rubio *et al.*, 2006; Balcázar *et al.*, 2003). En este estudio la inulina fue adicionada como fuente edulcorante y como sustrato para el *L. casei*. La Tabla 4 presenta algunas de las propiedades funcionales de la inulina y sus derivados en la industria de los alimentos:

Tabla 4. Propiedades funcionales de la inulina y sus derivados

Aplicación	Funcionalidad
Productos lácteos	Cuerpo y palatabilidad, capacidad de formar gel, emulsificantes, sustituto de azúcares y grasas, sinergismo con edulcorantes
Postres congelados	Textura, depresión en el punto de congelación, sustituto de azúcares y grasas, sinergismo con edulcorantes
Productos untables	Estabilidad de emulsión, textura y capacidad de ser untado, sustituto de grasas
Productos horneados	Disminución de a_w , sustituto de azúcares
Cereales de desayuno	Crujencia, capacidad de expansión
Preparación con frutas (no ácidas)	Cuerpo y palatabilidad, capacidad de formar (no ácidas) gel, estabilidad de emulsión, sustituto de azúcares y grasas, sinergismo con edulcorantes
Aderezos de ensaladas	Cuerpo y palatabilidad, sustituto de grasas
Productos cárnicos	Textura, estabilidad de emulsión, sustituto de grasas
Chocolate	Sustituto de azúcares, humectante

Fuente: Madrigal y Sangronis (2007).

Objetivos

Objetivo general

Desarrollar un producto de mango (*Mangifera indica* L.) variedad *Tommy Atkins* mínimamente procesado biofortificado con microorganismo probióticos, empleando la técnica de impregnación a vacío.

Objetivos específicos

- Caracterizar el mango fresco y el mango biofortificado en cuanto a las propiedades fisicoquímicas, texturales, de color, bromatológicas, y microbiológicas.
- Diseñar y formular la solución de impregnación que garantice el criterio de biofortificación para obtener un producto probiótico con *L. casei*.
- Evaluar la respuesta a la impregnación a vacío, en cuanto a las variables fracción y deformación volumétrica en cada etapa del proceso y la porosidad efectiva de la matriz.
- Realizar un estudio de almacenamiento del mango mínimamente procesado biofortificado con microorganismos probióticos.

1. Capítulo I

MANGO (*Mangifera indica* L.) BIOFORTIFICADO CON *Lactobacillus casei* MEDIANTE LA TÉCNICA DE IMPREGNACIÓN A VACÍO

MANGO (*Mangifera indica* L.) BIOFORTIFIED WITH *Lactobacillus Casei* BY VACUUM IMPREGNATION TECHNIQUE.

Resumen

Se desarrolló un producto de mango (*Mangifera indica* L.) variedad Tommy Atkins mínimamente procesado biofortificado con microorganismos probióticos, empleando la técnica de impregnación a vacío (IV). Se evaluó durante 15 días a 37 °C y bajo condiciones anaeróbicas, la viabilidad de crecimiento del *L. casei* en soluciones isotónicas de concentración 5 en escala MacFarland: 1) 25% p/p Inulina (I), 2) 14% p/p Glucosa (G), 3) 25% p/p I + 14% p/p G y 4) pulpa de mango (PM). Con la solución que presentó mayor recuento de microorganismos se trataron láminas de mango con la técnica IV y este proceso fue optimizado utilizando la metodología de superficie de respuesta con un diseño experimental tipo D-optima, considerando las variables independientes: [McFarland] (3 – 7) y espesor de lámina (3–7 mm); y las variables dependientes: fracción volumétrica de impregnación en la etapa de vacío y global (X_1 y X m³ solución impregnada/m³ muestra inicial), deformación volumétrica de impregnación en la etapa de vacío y global (γ_1 y γ m³ deformación muestra/m³ muestra inicial), porosidad eficaz del proceso IV (ϵ_e : m³ gas/m³ muestra) y recuento de microorganismos (UFC/g). Un estudio de almacenamiento del mango impregnado empacado a presión atmosférica, se realizó a 4±2 °C durante 15 días. Con las condiciones óptimas: patrón 3[McFarland] y espesor de lámina de 7 mm se obtuvo un producto biofortificado con un

recuento microbiológico de $6,4 \pm 0,1$ ciclos Log UFC/ 150 g mango fresco, lo cual cumple con la declaración de etiquetado nutricional, identificándolo como un producto con probiótico.

Palabras claves: Tommy Atkins, impregnación al vacío, alimentos funcionales, probióticos, prebióticos.

Abstract

A product of mango (*Mangifera indica* L.) cv Tommy Atkins minimally processed and biofortified with probiotic microorganisms was developed using the technique of vacuum impregnation (IV). Was assessed for 15 days at 37°C under anaerobic conditions, the viability of growth of *L. casei* in isotonic solutions of concentration MacFarland scale 5: 1) 25% w/w Inulin (I), 2) 14% w/p Glucose (G), 3) 25% w/w I + 14% w/w G and 4) mango pulp (PM). With the solution that presented higher microbial count, mango slices were treated with the technique IV and this process was optimized using the methodology of response surface with a D-optimal type experimental design, considering the independent variables: [McFarland] (3 - 7) and slice thickness (3-7 mm); and dependent variables: impregnation volumetric fraction of both vacuum stage and overall (X_1 and X m³ impregnated solution / m³ initial sample), volumetric deformation of impregnation of vacuum stage and overall (γ and γ_1 m³ sample deformation / m³ initial sample), efficient porosity of process IV (ϵ_e : m³ gas / m³ shown) and microbial counts (CFU / g). A study of storage impregnated mango packed at atmospheric pressure, was carried out at $4 \pm 2^\circ\text{C}$ for 15 days. With optimal conditions: pattern 3 [McFarland] and slice thickness 7 mm, a biofortified product with microbiological count 6.4 ± 0.1 cycles log CFU / 150 g fresh mango, fulfilling the nutrition labeling statement, identifying it as a probiotic product.

Keywords: Tommy Atkins, vacuum impregnation, functional foods, probiotics, prebiotics

Introducción

El mango es una fruta tropical, apreciada en el mercado internacional, con aumentos considerables, año tras año, en los volúmenes comerciales (Rodríguez y Bermúdez 2011; Bonilla *et al.*, 2010). Es una fruta de la zona intertropical que cuenta con gran aceptación por parte del consumidor debido a su extraordinario sabor, olor, color y textura que lo hacen especial. Se puede consumir fresco o como ingrediente en ensaladas, helados, mermeladas, entre otros. En la industria alimentaria ha crecido el interés por esta fruta porque presenta la característica de mantener las propiedades sensoriales casi sin alterarse y ser estable después del procesamiento, por lo cual puede ser una opción para comercializarla en países no productores (Giraldo *et al.*, 2006)

Han sido reportadas varias investigaciones enfocadas al desarrollo de nuevos productos a partir de esta matriz, con el propósito de mejorar su cadena agroindustrial y su potencial de comercialización (Villamizar *et al.*, 2011; Vargas *et al.*, 2010; Sothornvit y Rodsamran 2008; Ajila *et al.*, 2007; Giraldo *et al.*, 2006; Vergara-Valencia *et al.*, 2007)

La técnica de impregnación al vacío (IV) también ha sido aplicada en mango (Tommy Atkins) para el desarrollo de alimentos funcionales (AF), empleando calcio como componente con actividad fisiológica (CFA) (Ostos *et al.*, 2012; Cortes *et al.*, 2007). Diversas investigaciones avalan su efectividad en matrices alimentarias porosas (frutas, hortalizas y tubérculos): incorporación de solutos (Bugueño *et al.*, 2003; Chafer *et al.*, 2003; González-Martínez *et al.*, 2002; Fito *et al.*, 2001a, 2001b; Pavia *et al.*, 2000), incorporación de crioprotectores o crioprotectores (Talens *et al.*, 2003; Talens *et al.*, 2002a; Talens *et al.*, 2002b), incorporación de CFA (Restrepo *et al.*, 2010; Shah y Nath, 2008; Cortés *et al.*, 2007; Anino *et al.*, 2006; Cortés, 2004; Betoret *et al.*, 2003). Han sido aplicados procesos de IV, que impliquen el uso de microorganismos probióticos, en mango con *Lactobacillus casei* (Giraldo *et al.*, 2007; Giraldo *et al.*, 2003; uchuva con *L. casei* y *L. plantarum* (Marín *et al.*, 2010a), manzana con *L. casei* (Puente *et al.*, 2009), entre otros.

En el contexto mundial y nacional de salud, el consumo de AF, es un tema de interés general, debido a su relación con la disminución o prevención de padecer o desarrollar

ciertos tipos de enfermedades (Takachi *et al.*, 2008). Los AF están enfocados a un público específico, basados en su efecto benéfico o su declaración en salud (Rodríguez *et al.*, 2003; Roberfroid, 2000). Los alimentos con probióticos y prebióticos (simbióticos) se encuentran dentro de la gama de los AF, los cuales han sido evaluados científicamente corroborando su efecto sinérgico y benéfico en la salud del consumidor (Tripathy y Giri, 2014; Asemi *et al.*, 2014; Closa-Monasterolo *et al.*, 2013; Evageliou *et al.*, 2010; Harish y Varghese, 2006; Grajek *et al.*, 2005; Gill y Guarner, 2004). Los probióticos son microorganismos que al ser consumidos en cantidades adecuadas mejoran el equilibrio inmunológico, generando beneficios para la salud y el bienestar del huésped. Los prebióticos son componentes no absorbibles que se encuentran o adicionan en los alimentos, que estimulan uno o más grupos de microorganismos intestinales benéficos, y por lo tanto tienen un efecto positivo en la salud humana (Gibson y Roberfroid, 1995).

Estudios de casos clínicos afirman que los microorganismos probióticos pueden ser usados tanto para la prevención como para el tratamiento en estados diarreicos, gastroenteritis, síndrome de colon irritable, enfermedad de Crohn, colitis, pacientes con cáncer de vejiga; así como para mejorar la función inmune, la digestión de la lactosa, algunas alergias infantiles, hiperlipidemia, enfermedades hepáticas, procesos inflamatorios, infecciones por *Helicobacter pylori*, actividad antitumoral, y actividad antimicrobiana, otros tipos de cáncer, entre muchos otros (Tripathy y Giri, 2014; De Preter *et al.*, 2011; Pereira *et al.*, 2011; Evageliou *et al.*, 2010; Hori, 2009; Barrentxe *et al.*, 2008; Naito *et al.*, 2008; Kligler *et al.*, 2007; Takeda y Okumura, 2007; Parvéz *et al.*, 2006; Harish y Varghese, 2006).

Los probióticos más comúnmente usados son las bacterias ácido lácticas (BAL) (Prado *et al.*, 2008; Kligler *et al.*, 2007; Harish y Varghese, 2006). Dentro del grupo de las BAL se encuentra el género *Lactobacillus casei*, una especie que puede colonizar una amplia variedad de hábitats asociado a su metabolismo (amplio rango de temperaturas y pH) con importantes aplicaciones en la agroindustria de alimentos (Giraffa *et al.*, 2010; Hori, 2009); sin embargo, sus requerimientos y viabilidad deben ser establecidos bajo condiciones de proceso, para su óptima aplicación (Mantzouridou *et al.*, 2012; Parvez *et al.*, 2006; Champagne *et al.*, 2005; Young y Huffman, 2003).

Por otro lado, la inulina es una de las fibras prebióticas de mayor uso en la industria alimentaria, dadas sus propiedades nutricionales y características tecnológicas sobre el sabor y la textura del alimento (Álvarez y Barbut, 2013; Ziobro *et al.*, 2013; Barclay *et al.*, 2010; Meyer *et al.*, 2011; Franck, 2002). Además, se considera un excelente vehículo para la inclusión de probióticos, favoreciendo la colonización y la proliferación en el intestino del hospedero (Glibowski *et al.*, 2014; Closa-Monasterolo *et al.*, 2013; Mantzouridou *et al.*, 2012; Oliveira *et al.*, 2011; Evageliou *et al.*, 2010; Roberforid, 2002).

Según la FAO, para que un alimento cumpla con las características de alimento con probióticos, debe contener como mínimo un recuento de $10^6 - 10^7$ UFC/g o mL durante todo el tiempo de vida útil (Champagne *et al.*, 2005). Dadas las condiciones nutricionales y de incorporación, la mayoría de los productos con características probióticas son derivados lácteos (Espinoza y Navarro, 2010; Buriti *et al.*, 2007), lo cual implica serias limitaciones para personas con intolerancia a la lactosa (Pereira *et al.*, 2011; Parvez *et al.*, 2006) y veganos (Prado *et al.*, 2008). En general, pocos estudios de incorporación de BAL como probióticos en matrices alimentarias no lácteas han sido reportados (Luana *et al.*, 2014; Pereira *et al.*, 2011; Coda *et al.*, 2011; Rivera-Espinoza y Gallardo-Navarro, 2010; Marín *et al.*, 2010a, 2010b; Mårtensson *et al.*, 2000).

Esta situación ha generado un reto para la industria de alimentos, quien desde las oficinas de Investigación + Desarrollo + innovación (I+D+i), debe buscar nuevas alternativas o alternativas diferentes a los derivados lácteos, que satisfagan las necesidades del consumidor moderno. En este sentido, se hace necesario, el ajuste de las condiciones de crecimiento y de viabilidad para el microorganismo en estudio (Pereira *et al.*, 2011; Puente *et al.*, 2009), y el uso de técnicas combinadas para su desarrollo con el propósito de suministrar el ambiente necesario (nutrientes, acidez, pH, entre otros.) (Mårtensson *et al.*, 2000), que permitan alcanzar la declaración nutricional como alimentos enriquecidos con probióticos.

El objetivo de esta investigación fue desarrollar un producto de mango (*Mangifera indica* L.) variedad Tommy Atkins mínimamente procesado biofortificado con microorganismos probióticos, empleando la técnica de impregnación a vacío.

1.1. Materiales y métodos

1.1.1 Materias primas

Se emplearon mangos variedad Tommy Atkins, adquiridos en el mercado local, en forma de láminas de 2 x 2 cm² y espesores entre 3 y 7 cm; con grado de madurez comercial, verificada mediante la relación del porcentaje de acidez y °Brix. Se trabajó con la cepa comercial de *Lactobacillus casei* ATTC 393 (Quimirel Ltda®) conservada en cryo viales y activada en un medio de cultivo caldo MRS (De Man, Rogosa, Sharpe- Merck®). Para la preparación de las soluciones de impregnación, se utilizó inulina (I) (Tecnas.S.A® al 91% de pureza) y glucosa anhidra (G) (Carlo Erba® al 99% de pureza).

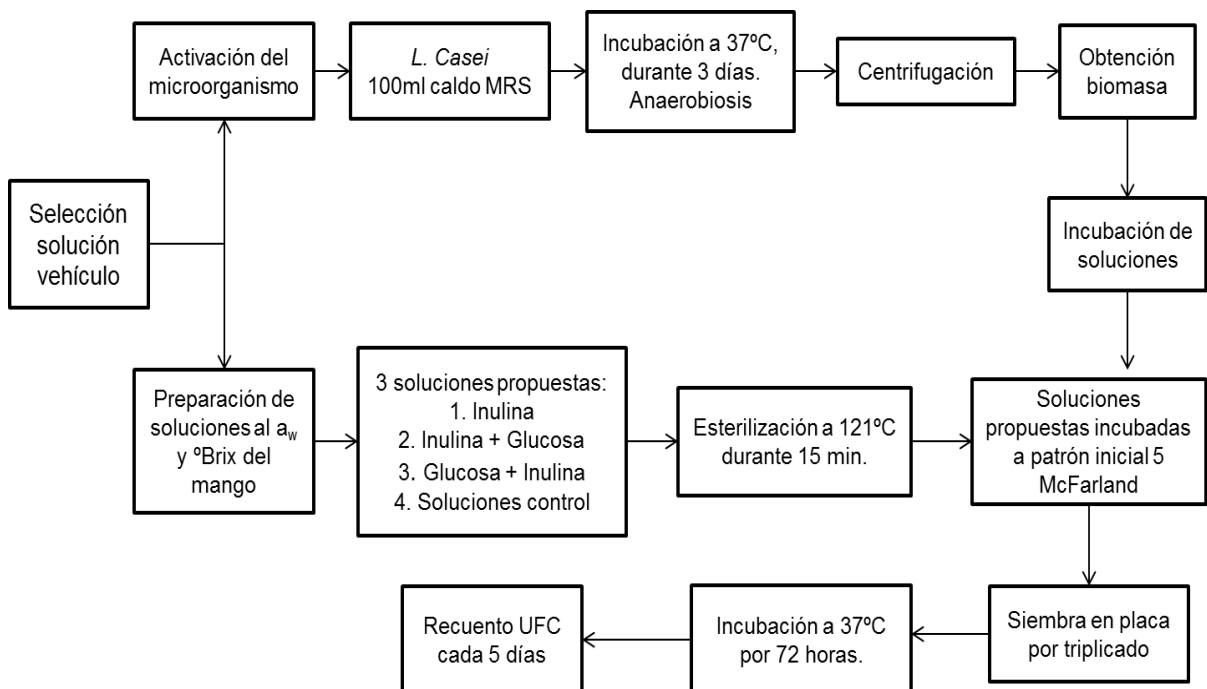
1.1.2 Selección de la solución de impregnación vehiculizantes de *L. casei*

Las soluciones evaluadas como vehículos para la IV fueron isotónicas al mango, con el propósito de eliminar otros mecanismos de transferencia de masa, diferentes al mecanismo hidrodinámico utilizado durante el proceso (Cortés, 2004). Las soluciones evaluadas fueron: 25% p/p Inulina (I), 14% p/p Glucosa (G), 25% p/p I + 14% p/p G y pulpa de mango (PM) a 11,5 °Brix. Cada solución fue inoculada con el *L. casei* a una concentración de 5 patrón de McFarland. La figura 5, describe la metodología realizada para la selección de la solución vehículo de impregnación.

La activación fue realizada en el medio de cultivo MRS, incubando a 37 °C durante 3 días en anaerobiosis. La cepa activada fue inoculada en cada una de las soluciones preparadas, garantizando un patrón inicial de McFarland 5 (1500 millones de bacterias/mL) (Marín *et al.*, 2009). El criterio de incorporación de microorganismos fue

fijado de forma tal que cumpla con el criterio de declaración nutricional de alimento enriquecido con probióticos, con un recuento mínimo de 10^6 UFC/mL, según la Resolución 0333 de 2011 (Ministerio de la Protección Social – Colombia). Todas las soluciones fueron previamente esterilizadas en autoclave (Cosolodated Stills y Sterilizers) a $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 15 min, y las determinaciones fueron realizadas por triplicado. Para observar el comportamiento de los microorganismos, las soluciones fueron conservadas a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ bajo condiciones anaeróbicas, con tiempos de almacenamiento 0, 5, 10 y 15 días (Marín *et al.*, 2009). Para cada tiempo de control se determinaron las variables fisicoquímicas (a_w , $^{\circ}\text{Brix}$, humedad, densidad, acidez, pH) y el recuento en unidades formadoras de colonia – UFC/mL. Se consideró como soluciones control las mismas anteriores sin la inclusión del *L. casei*. La solución que presentó el mayor recuento de microorganismos durante los 15 días de almacenamiento a 37°C , fue la seleccionada para el proceso de IV y se le realizó una valoración de la presencia y el tamaño de los microorganismos por microscopia electrónica de barrido (SEM), utilizando un microscopio marca JEOL, referencia JSM-7100F.

Figura 5. Metodología para la selección de la solución vehículo de impregnación



1.2. Proceso IV.

El proceso IV se realizó sobre las láminas de mango sumergidas en la solución de impregnación seleccionada previamente, bajo condiciones de presión de vacío de 20 kpa (5 min) y presión barométrica local de 85,3 kpa (5 min), utilizando la metodología descrita por Salvatori *et al.*, (1998). El proceso IV se optimizó utilizando la metodología de superficie de respuesta con un diseño experimental tipo D-optima, considerando las variables independientes: [McFarland] (3 – 7) y espesor de lámina (3 – 7 mm); y las variables de respuesta: fracción volumétrica de impregnación en la etapa de vacío y global (X_1 y X m³ de solución impregnada/m³ de muestra inicial), deformación volumétrica de impregnación en la etapa de vacío y global (γ_1 y γ m³ de deformación en la muestra/m³ de muestra inicial), porosidad eficaz del proceso IV (ϵ_e : m³ de gas/m³ de muestra) y recuento de microorganismos (UFC/g). Los parámetros IV se determinaron según el modelo matemático descrito por Salvatori *et al.*, (1998) y Cortes *et al.* (2004) y el recuento de los microorganismo se realizó empleando el método de siembra en profundidad en agar MRS incubadas a 37 °C por 72 h en condiciones de anaerobiosis (Marín *et al.*, 2010a). Los resultados obtenidos fueron analizados utilizando el Software Design Expert 8.0.5.2., maximizando el conteo de UFC/mL, mientras que las otras variables de impregnación fueron mantenidas dentro del rango obtenido del diseño experimental.

1.3. Almacenamiento de mango biofortificado

Las muestras impregnadas fueron almacenadas bajo refrigeración (4 ± 2 °C) durante 15 días de almacenamiento, empacadas a presión atmosférica, empleando un empaque transparente termoformado de base (diámetro: 4,25 pulg, altura: 0,98 pulg) y tapa (diámetro: 4,25 pulg, altura: 2,16 pulg) de material BOPS (Alico®) y con espesor: 13/1000 pulg. Los empaques fueron llenados con una porción de 150 g de mango impregnado,

realizando la caracterización fisicoquímica, física y el conteo de *L. casei* a los tiempos de control de 0, 3, 6, 9, 12 y 15 días. Los recuentos del microorganismo para el producto final durante su almacenamiento se realizaron por el método de siembra en profundidad, expresados como UFC/ 150 g de porción. Los resultados del almacenamiento, fueron analizados a partir de ANOVAS utilizando el método LSD (mínimas diferencias significativas) como método de comparaciones múltiples, con un nivel de confianza del 95% ($\alpha = 0,05$). El análisis de varianza fue realizado con el paquete estadístico Statgraphics Centurion XVI.I

1.4. Caracterización fisicoquímica y física

Las muestras de mango frescas e impregnadas se caracterizaron en términos de humedad según el método oficial 930.15/90 de la AOAC; pH, usando un potenciómetro por inmersión del electrodo (método AOAC 981.12/90); sólidos solubles, mediante lectura refractométrica (método AOAC 932.12/90); acidez, empleando el método de titulación con NaOH (método AOAC 942.05/90); índice de madurez, calculado a partir de la relación entre °Brix totales y el % de ácido cítrico; a_w , determinada con un higrómetro de punto de rocío a 25°C (Aqualab serie 3TE, Decagon, Devices, Pullman, WA, USA); densidad de las disoluciones, determinada por el método del picnómetro (AOAC-90-945.06). Los parámetros de color fueron determinados en las coordenadas del CIE- $L^*a^*b^*$, a partir de los espectros de reflexión empleando un espectrofotómetro de esfera (modelo SP64, X-RITE Inc, MI, USA), con iluminante D65 y un observador de 10° como referencia. La textura se realizó a partir de ensayos de punción con un analizador de textura TA.XT2 de la firma Stable Micro Sistema (SMS), utilizando el Software Texture Exceed, versión 2.64 y una celda de carga de 50 kg.

1.5. Resultados y discusión

1.5.1 Caracterización del mango fresco

La Tabla 5, presenta los resultados de la caracterización de las propiedades fisicoquímicas, y físicas del mango fresco, variedad Tommy Atkins.

Tabla 5. Caracterización del mango fresco, variedad Tommy Atkins

Parámetro	Mango fresco
Humedad (%)	82,1 ±0,1
a_w	0,980±0,003
°Brix	11,5 ±0,4
pH	3,2 ± 0,1
Acidez (% ácido cítrico)	1,4 ±0,1
Índice de madurez	8,5 ±1,1
Fuerza de ruptura (N)	5,8 ± 1,0
L*	75,7 ± 1,2
a*	4,8 ±1,9
b*	55,8 ±1,6

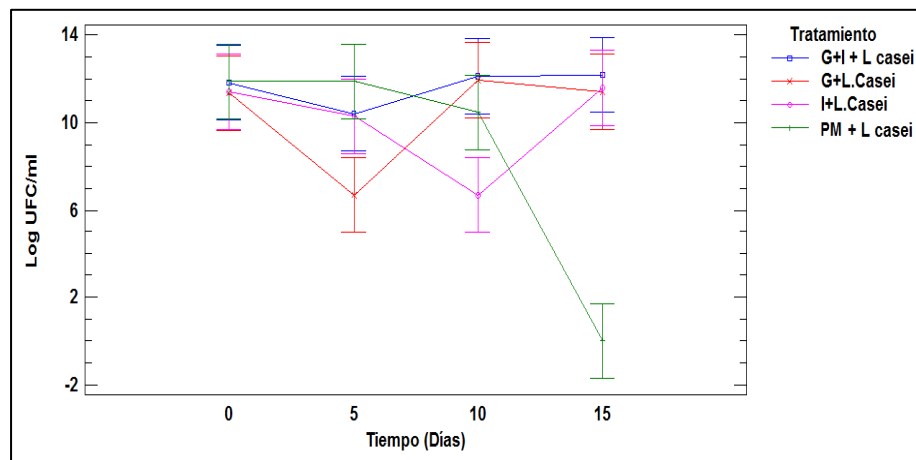
Los valores de los parámetros fisicoquímicos del mango fresco lo identifican con un fruto perecedero, con un valor de humedad y a_w alto, que lo caracteriza como un sustrato favorable al crecimiento de microorganismos; su contenido de sólidos solubles es muy importante, principalmente aportados por carbohidratos como la sacarosa (Villamizar *et al.*, 2011). Resultados similares han sido reportados en otras investigaciones (Ostos *et al.*, 2012; Mujica-Paz, Valdez-Fragoso, López-Malo, Palou y Welti-Chanes, 2003; Cortes *et al.*, 2007). Las diferencias encontradas, se deben principalmente al estado de madurez seleccionado para la investigación. Por otro lado, las propiedades físicas de color y textura presentan diferencias con respecto a reportados por Ostos *et al.*, (2012), debido a las geometrías evaluadas y el estado de madurez de la fruta. Ostos *et al.*, (2012) reportan valores de inferiores de L* 67,5±14,4) en el mango fresco, lo cual se podría

asociar al espesor de las muestras cilíndricas que las hace ver más oscuras; además, valores similares de a^* ($7,51 \pm 2,55$) y b^* ($54,22 \pm 3,99$), que las ubica en la zona de los grises en el plano cromático a^*b^* .

1.5.2 Obtención de la solución de impregnación vehiculizante del BAL

La Figura 6 presenta los recuentos en unidades logarítmicas (UFC/mL) de *L. casei*, en las soluciones de impregnación evaluadas, durante su almacenamiento a 37°C y 15 días. El ANOVA reportó diferencias estadísticas significativas en el recuento microbiano con respecto a los factores tipo de solución ($p = 0,0090$) y tiempo de almacenamiento ($0,0181$) y a sus interacciones ($p=0,000$). Situación similar ha sido reportado por (Marín *et al.*, 2009), utilizando una solución isotónica de glucosa, patrón 0,5 de escala McFarland y pulpa de uchuva.

Figura 6 . Recuento (UFC/mL) de *L. casei* en las soluciones de impregnación G+I+*L.casei*, G+*L.casei*, I+*L.casei* y PM+*L.casei*, a 37°C y 15 días de almacenamiento



Se observa que la soluciones G+I+ *L. casei* conserva un recuento bacteriano estable a través del tiempo de almacenamiento, siendo sus promedios y desviaciones estándar durante los 15 días $11,6 \pm 0,2$; mientras que con la solución G+*L. casei*, se presentan

fluctuaciones a los 5 días, probablemente por un proceso de adaptación en el sustrato, incrementando posteriormente hasta alcanzar niveles similares a la solución G+I+ *L. casei* (11,4±0,4). Para el caso de la solución de impregnación I+ *L. casei*, el comportamiento es similar a la solución G+L.*casei*, pero necesitó un tiempo de adaptación mayor (10 días) donde su recuento alcanza valores aproximados de 6 unidades logarítmicas. Posterior a este recuento, se observa un incremento hasta valores de (11,5±0,4), similares a los alcanzados por las soluciones G+I+ *L. casei* y G+L. *casei*.

Bustamante *et al.*, 2006, determinaron el crecimiento y la tasa específica de crecimiento para varias cepas de BAL cultivadas en glucosa y en dos compuestos prebióticos: rafinosa e inulina; se observó que fue similar en inulina y rafinosa, pero siendo menor que en glucosa, por lo cual se sugirió que existen diferencias en perfiles de fermentación con sustancias prebióticas, indicando el uso preferencial de carbohidratos con un grado de polimerización bajo. Resultados similares han sido reportados por (Rabiu *et al.*, 2001; Van der Meulen *et al.*, 2001), donde las BAL metabolizan polisacáridos como las inulinas o sus derivados, pero prefieren oligosacáridos con grado de polimerización de tres o cuatro monómeros o en su efecto monosacáridos como la glucosa. A pesar de la preferencia de las BAL por azúcares menos densos, la inulina es el prebiótico más ampliamente usado de forma comercial principalmente para la formulación de alimentos funcionales y como sustituto de grasa en productos cárnicos, dado que ofrece beneficios para la salud, presenta un aporte calórico reducido (máximo de 1,5 kcal/g), fermentable por la microbiota intestinal selectiva del intestino grueso (Madrigal y Sangronis, 2007). Estudios in vivo corroboran que la inulina es una excelente fuente prebiótica, sugiriendo que una ingesta diaria de 4 g, son efectivos para incrementar el número de bacterias beneficiosas en el colon (Jenkins *et al.*, 1999).

En la solución de impregnación PM+*L. casei*, se observó un recuento importante de *L. casei* hasta los 10 días de almacenamiento, alcanzando niveles aproximados de 10 unidades logarítmicas; posteriormente, se presenta un descenso fuerte alcanzando en el día 15 recuentos hasta la dilución 10^5 (6,4±0,1), lo que no cumple las condiciones mínimas para que la solución de impregnación sea un vehículo, que al impregnar el fruto de mango pueda alcanzar niveles mayores a 10^6 y así, poder ser considerado un alimento funcional enriquecido con probióticos, según la Resolución 0333 de 2011

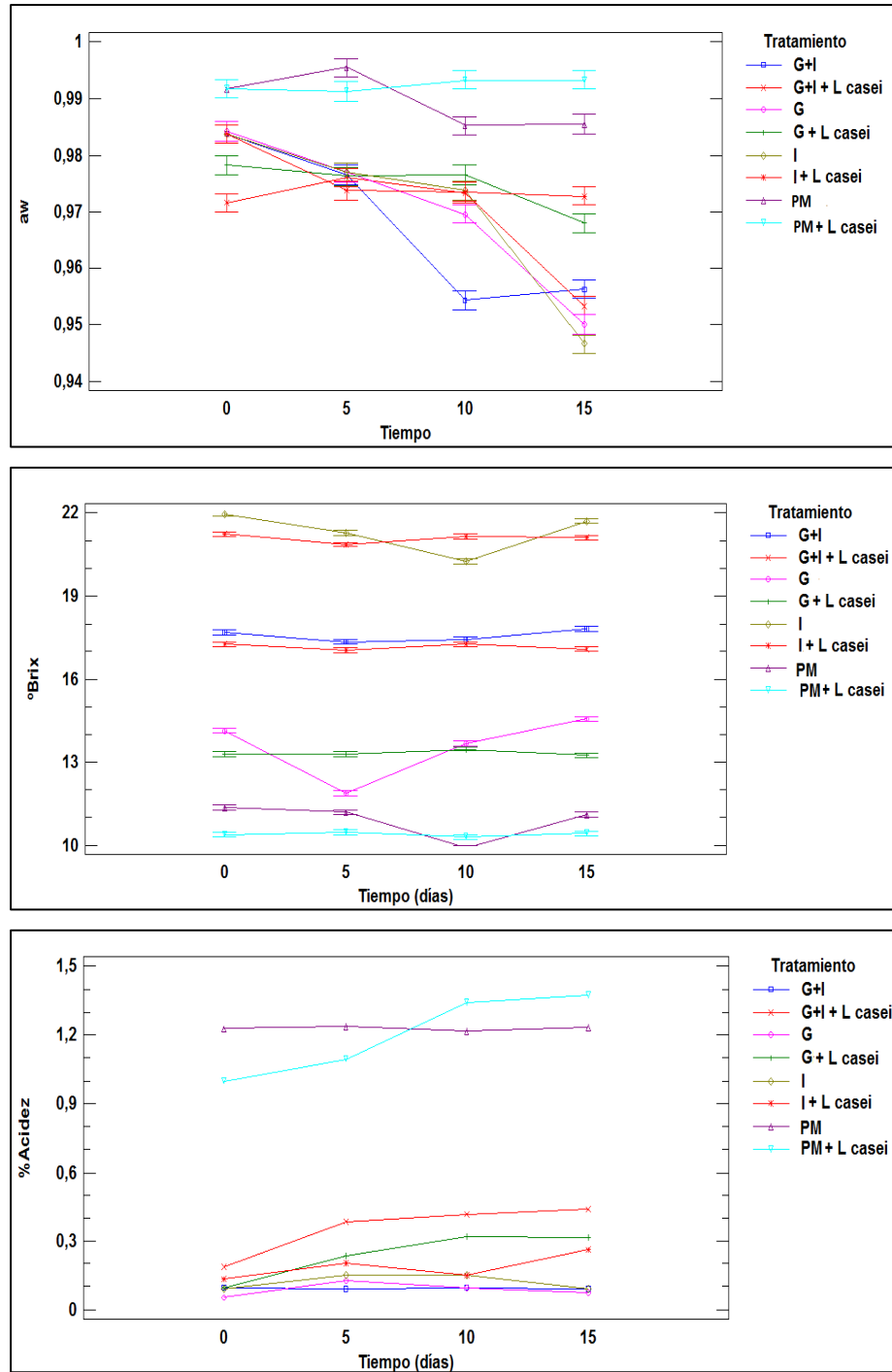
(Ministerio de la Protección Social – Colombia). Algunos investigadores han reportado en procesos de impregnación en mango con *L. casei*, niveles entre 5 y 7 unidades logarítmicas, considerándolo como una matriz adecuada para el crecimiento de este microorganismo, asociado a su alto valor nutricional (Giraldo *et al.*, 2007).

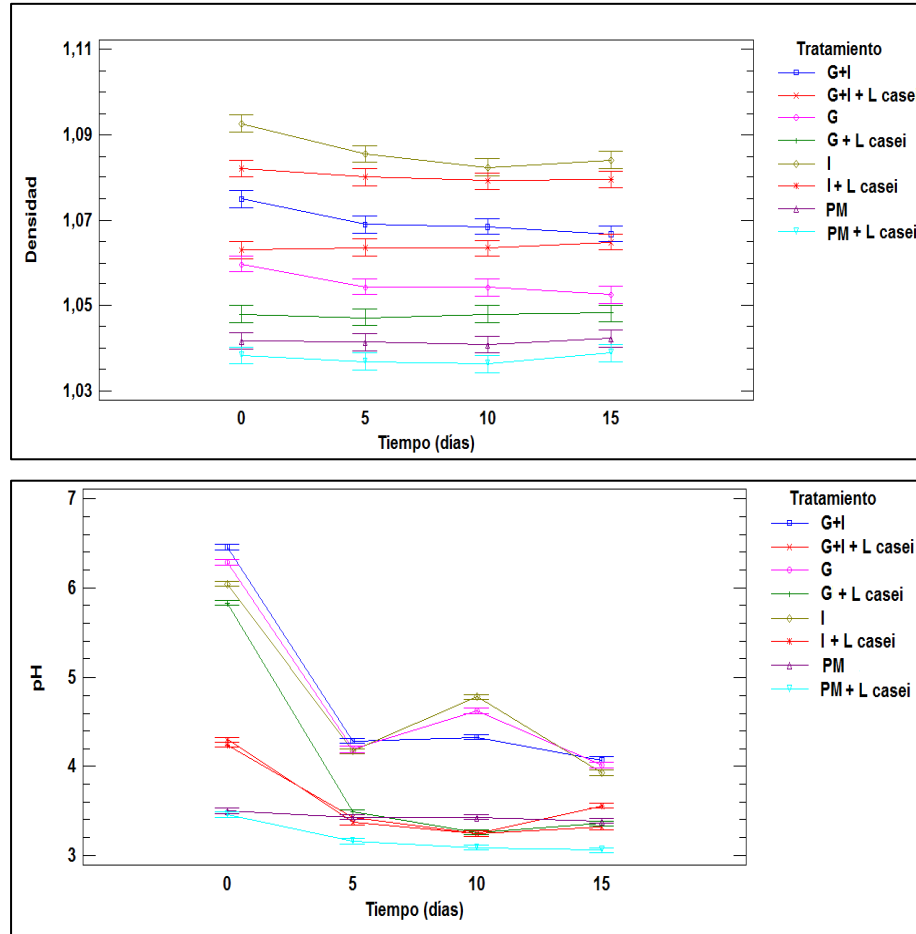
Con respecto al comportamiento con la solución G + *L. casei*, estos datos concuerdan con (Marín *et al.*, 2009) que evaluó la viabilidad del crecimiento de *L. casei* en pulpa de uchuva y en solución isotónica de glucosa como vehículo de aplicación para IV, reportando recuentos de $5,40 \times 10^8$ y $7,3 \times 10^8$ UFC/mL respectivamente. Ambos resultados cumplen con el criterio de probiótico con base a la viabilidad del microorganismo.

La Figura 7, presenta los valores medios y sus desviaciones estándar de las propiedades fisicoquímicas, en función de las soluciones de impregnación evaluadas y el tiempo de almacenamiento. El ANOVA reportó diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) para la a_w , pH, °Brix, densidad y acidez, con respecto a los factores tipo de solución y tiempo de almacenamiento, y a las interacciones de ambos.

Con respecto a la a_w , los resultados de las soluciones no presentaron cambios apreciables, variando entre un mínimo de $0,946 \pm 0,003$ y un máximo de $0,996 \pm 0,002$, esta situación es debido a que todas las soluciones inicialmente se desarrollaron en condiciones isotónicas al mango, siendo los mayores valores para la PM y PM+*L. casei*. En todos los casos, los valores de a_w de las soluciones, reflejan un sustrato favorable al crecimiento la mayoría de microorganismos, tales como mohos (0,8), levaduras (0,85), bacterias grampositivas (0,90) y bacterias gramnegativas (0,93) entre otros, que limitan su tiempo de uso (Bibek y Bhunia, 2010). Según Doyle *et al.*, (2001), la a_w mínima que puede soportar un microorganismo está relacionado con la temperatura, siendo su valor para el crecimiento de bacterias a 25°C del orden de 0,91-0,88. El crecimiento bacteriano no sólo es dependiente del a_w mínimo, sino que dependen de la relación pH- a_w , siendo sus valores mínimos 6,8 y 0,91, respectivamente. Algunas investigaciones han reportado valores de a_w en soluciones de impregnación a base de leche (0,991), zumo de manzana (0,984) y zumo de mandarina (0,983) con *L. casei* (Betoret *et al.*, 2003; Betoret *et al.*, 2012).

Figura 7. Características fisicoquímicas a_w , °Brix, densidad, % acidez y pH de los tratamientos evaluados durante 15 días de almacenamiento a 37°C





Los valores de °Brix y densidad, se enmarcan como asociaciones de soluciones, siendo en orden decreciente: I, I+L. casei (22 y 20 °Brix, y 1.1 y 1,08 g/mL), G+I, G+I+L. casei: (18.0 y 17.0 °Brix, y 1.075 y 1,065 g/mL), G, G+L. casei (15.0 y 12.0 °Brix, y 1.06 y 1,045); y PM, PM+L. casei (11.5 y 10.0 °Brix, y 1.04 y 1.035). Estos resultados se asocian a la estructura molecular del carbohidrato, donde la PM es más fácilmente fermentable e hidrolizable al ser una matriz multicomponente y susceptible a mayores cambios fisicoquímicos (Betoret *et al.*, 2012).

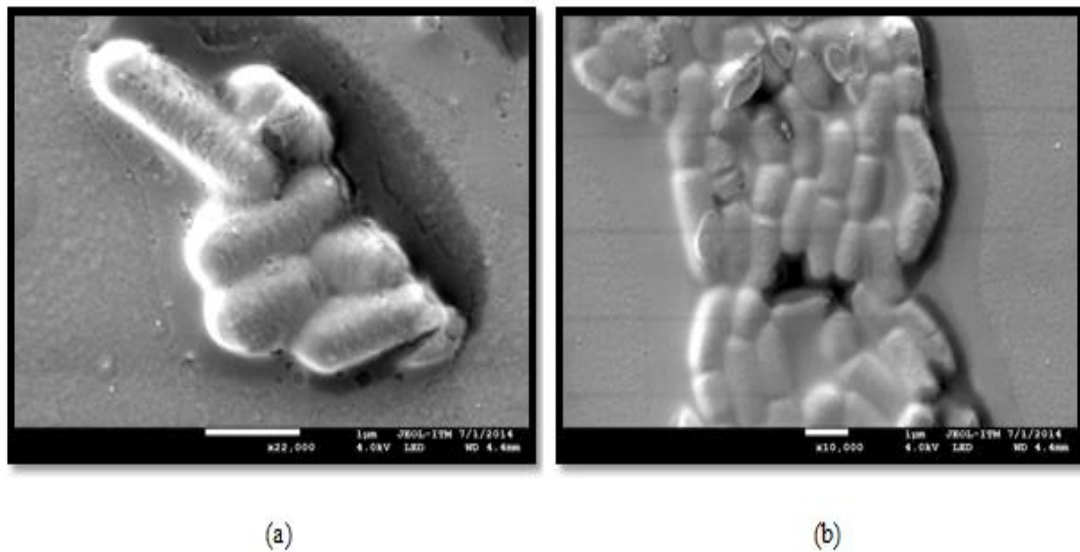
En relación al pH, todas las soluciones son diferentes al inicio del almacenamiento, posteriormente, se presenta una disminución brusca del pH generando 2 agrupaciones, una con pH entre 4,1 – 3,9 conformada por I, G y G+I y otra conformada con pH entre 3,6 y 3,1 conformada por I+L. casei, G+L. casei, G+I+L. casei, PM y PM +L. casei. Se observa que la disminución del pH se hace mayor por la presencia del microorganismo inoculado en las soluciones, dado que la interacción con los sustratos genera una mayor

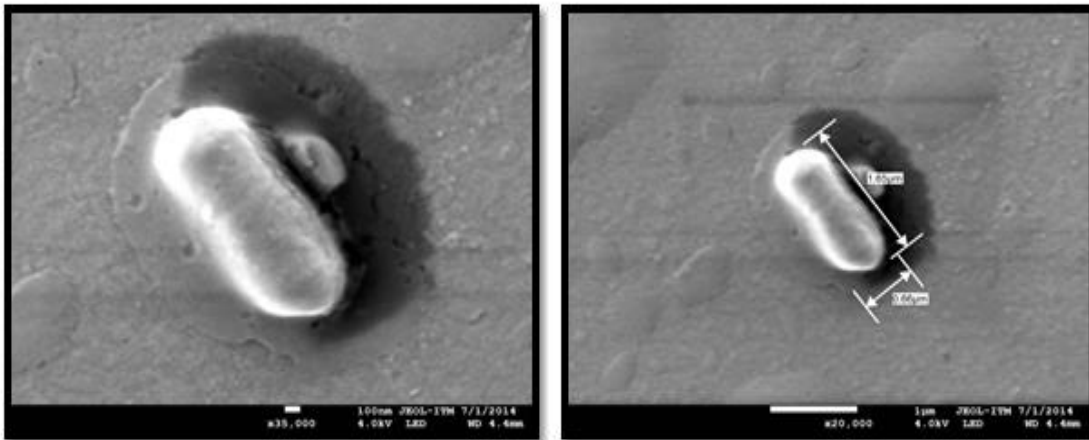
actividad metabólica del microorganismo, que favorece el aumento en la producción de ácido láctico y como consecuencia un aumento en la acidez del medio (Marín *et al.*, 2009). Según Kneifel *et al.*, (2000), muchas BAL tienen la capacidad de fermentar diferentes carbohidratos, pero depende del metabolismo de la especie y de la cepa específica (Kuwuhara *et al.*, 2004). La mayor disminución se presentó en la solución PM + *L. casei*, debido al mayor proceso fermentativo antes mencionado.

A pesar de que en todos los tratamientos evaluados se observó viabilidad de la cepa de *L. casei*, se seleccionó la solución de G+I, como vehículo para el proceso de IV en mango Tommy Atkins, debido a que los recuentos fueron homogéneos y en mayor cantidad, al final del tiempo de almacenamiento.

La Figura 8 presenta las micrografías obtenidas por SEM para la solución de G+ I + *L. casei*, observándose la presencia de las BAL, bajo su forma típica (ovalada de borde redondo) y con tamaños aproximados del *L. casei* de 1.65µm x 0,66 µm. Estos resultados concuerdan con los reportados por (Marín *et al.*, 2009; Sutula, *et al.*, 2012).

Figura 8. Microscopías SEM en la solución de G+ I inoculada con *L. casei* a diferentes aumentos: (a) 22000; (b) 35000; (c) 10000 y (d) 20000





(c)

(d)

1.6 Proceso IV

Las Tabla 6 y 7 presentan los valores medios y desviaciones estándar de los parámetros IV y recuentos *L. casei*, según diseño experimental realizado, y los resultados del ANOVA. La Figura 9 presenta los gráficos de superficie de respuesta de las variables dependientes.

Tabla 6. Respuesta a la IV del mango Tommy Atkins con la solución G+I+ *L. casei*, obtenida bajo las diferentes geometrías evaluadas y [McFarland].

Corrida	[McFarland]	Espesor	X (%)	X ₁ (%)	γ (%)	γ ₁ (%)	ε _e (%)	Log ₁₀ UFC/g
1	7	7	3,73±1,06	-5,31±0,005	2,02± 0,01	1,64±0,01	7,40±0,01	7,54±0,09
2	7	3	3,20±0,35	-10,15±0,02	1,39±0,01	1,63±0,01	11,33±0,01	7,60±0,55
3	4	6	3,35±1,03	-6,31±0,01	2,69±0,03	4,5±0,075	5,34±0,03	7,43±0,06
4	3	7	3,24±0,1	-7,27±0,02	4,53±0,25	5,78±0,05	4,15±0,26	8,08±0,63
5	5	7	3,46±1,13	-6,57±0,02	2,50±0,01	3,93±0,02	7,77±0,01	7,81±0,02
6	3	5	2,80±0,70	-8,09±0,02	3,16±0,02	4,54±0,02	3,90±0,02	7,57±0,56
7	3	5	2,71±1,07	-8,13±0,02	3,39±0,01	4,75±0,01	3,84±0,02	7,60±1,00
8	3	7	3,21±1,03	-7,19±0,01	4,80±0,05	5,80±0,04	4,06±0,05	8,08±1,14
9	4	4	3,18±0,93	-9,80±0,01	1,60±0,01	2,53±0,01	8,46±0,01	6,73±0,10
10	3	3	3,32±0,95	-14,25±0,02	1,38±0,01	2,20±0,01	11,97±0,01	7,60±0,80
11	5	6	6,29±1,06	-7,37±0,02	2,60±0,06	3,23±0,01	6,70±0,06	6,30±0,31
12	6	5	3,03±1,41	-6,96±0,01	1,40±0,03	2,40±0,02	6,81±0,02	7,37±0,67
13	7	3	3,69±0,33	-12,30±0,04	1,48±0,01	1,35±0,01	11,44±0,01	7,67±0,51
14	3	3	1,40±1,69	-12,66±0,01	1,14±0,03	1,87±0,02	11,64±0,04	7,68±0,41
15	7	7	4,11±0,98	-5,51±0,01	2,27±0,01	1,70±0,01	7,34±0,02	7,69±0,47
16	5	4	2,88±1,11	-10,03±0,01	1,57±0,01	2,26±0,01	8,94±0,01	8,40±0,05

Tabla 7. Resultados del ANOVA en el proceso de optimización del proceso IV en mango biofortificado con *L. casei*.

Variable	Intercepto	A	B	AB	A ²	B ²
X	3,80	0,43	0,42	-0,089	-0,57	-0,043
Valor p	----	0,2060	0,2099	0,7973	0,4088	0,9498
X ₁	-7,65	0,96	3,04	-0,11	0,52	-2,18
Valor p	----	0,0018	<0,0001	0,6557	0,2978	0,0012
γ	1,85	-0,61	1,00	-0,67	0,76	-0,24
Valor p	----	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0007	0,1653
γ ₁	3,0	-1,21	1,05	-0,91	0,28	-0,49
Valor p	----	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,1108	0,0116
ε	6,82	0,74	-2,89	0,91	-2,14	3,96
Valor p	----	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
UFC/mL	-1,18*10 ⁷	-2,05*10 ⁷	1,89*10 ⁷	-1,88*10 ⁷	2,62*10 ⁷	4,86*10 ⁷
Valor p	----	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

La X no presentó diferencias significativas ($p > 0,05$) con respecto a ninguno de los factores; mientras que si hubo diferencia significativas en X₁, γ, γ₁, ε y el recuento de *L. casei*, con respecto a la [McFarland] y al espesor. El comportamiento de X estuvo dentro del rango de 3 – 4%, para el rango estudiado de [McFarland] y espesor, lo que denota una homogeneidad en el mecanismo hidrodinámico impuesto por los cambios de presión (Fito, 1994; Fito y Pastor 1994). La X₁ presentó resultados negativos, lo que denota la salida de líquido nativo del interior de la matriz del mango, que se hace mayor con la disminución del espesor de la lámina y con el incremento de la [McFarland], lo cual se asocia al daño mecánico del tejido superficial de la estructura vegetal por el corte realizado para la obtención de las láminas, dejando expuesto los líquidos del tejido del mesocarpio que ante el vacío impuesto se combinan con la solución de impregnación, aun siendo isotónica.

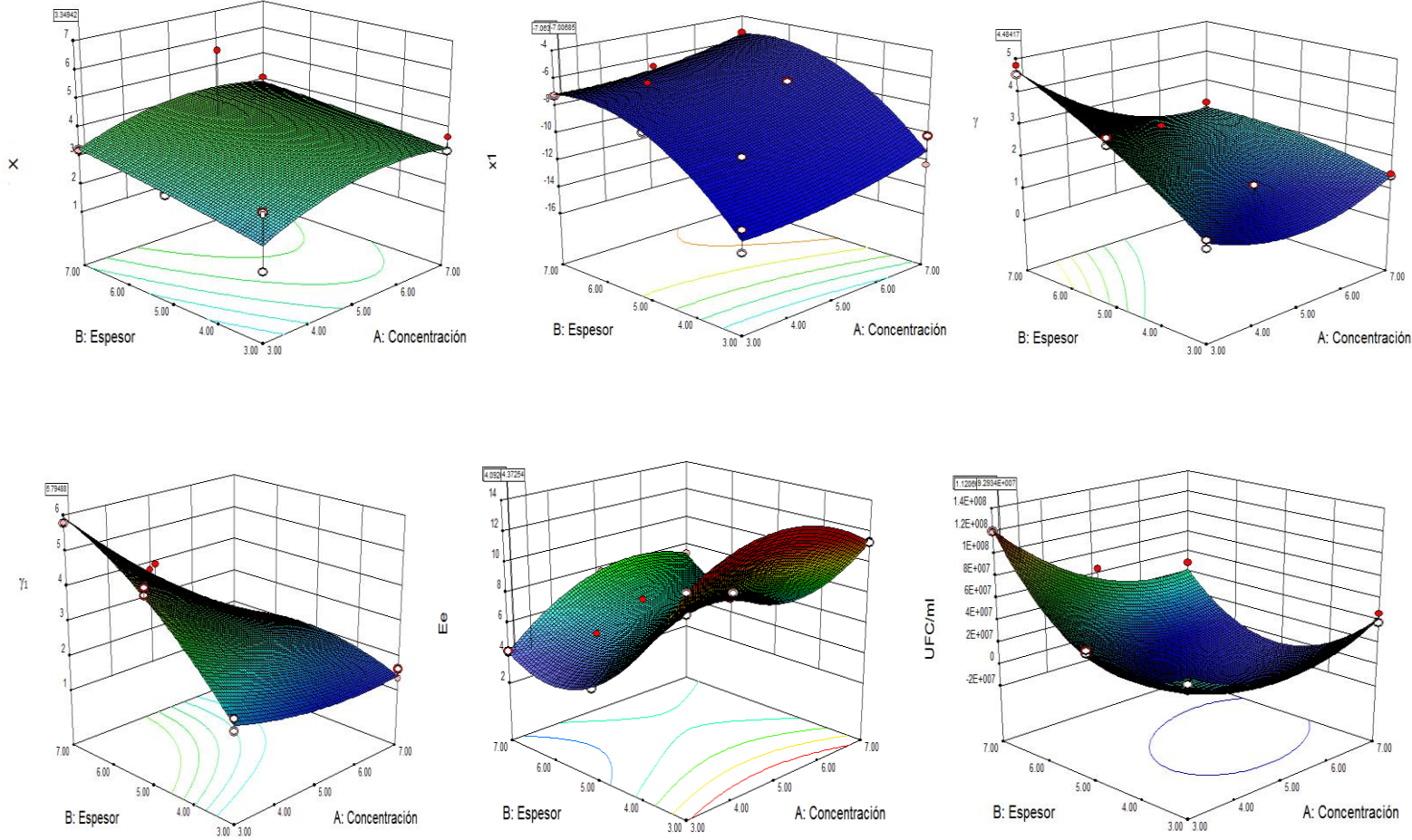
Estos resultados concuerdan con los reportados en otras matrices alimentarias sometidas al proceso de IV (Cortés, *et al.*, 2010; Martelo, 2011; Gras *et al.*, 2002; Marin,

2009; Ruiz *et al.*, 2010). Otras investigaciones reportan efectos similares respecto al factor espesor, donde la forma geométrica evaluada, cilindros y rectángulos, generó cambios en las variables IV (Cortes *et al.*, 2007), y en mangos fortificados reportan valores de X del orden del 5 al 6.5% y de ϵ_e entre 5,1 al 6,6% (Ostos *et al.*, 2012; Cortes *et al.*, 2007), superiores a los encontrados en este estudio, sin embargo, menores valores de X y ϵ_e también han sido reportados en tajadas de mango utilizando soluciones isotónicas de sacarosa (Mujica-Paz *et al.*, 2003; Salvatori, 1998).

Los valores de γ_1 y γ fueron positivos, lo que denota una expansión volumétrica de la estructura, afectado principalmente por el vacío aplicado durante los 5 min y se potencia principalmente con la disminución del espesor y con la interacción negativa del espesor – [McFarland] alcanzando valores del orden de 4,5%. La porosidad eficaz al proceso IV mostró valores altos (10 – 12%), lo que hace de esta matriz muy adecuada al proceso IV a espesores bajos y en cualquier [McFarland]. Algunas investigaciones han reportado valores menores de ϵ_e en manzana (0,336), melón (0,071) y mango (0,016) en soluciones de sacarosa (Mujica-Paz *et al.*, 2003) y valores menores de γ_1 en manzana (0,041) en zumo de manzana (Betoret *et al.*, 2003).

El recuento de *L. casei* alcanzó niveles de 8 unidades logarítmicas cuando el sistema operó a [McFarland] en el rango 3 - 4 y espesores 6 – 7 cm; sin embargo, en todos los experimentos el mango presentó niveles superiores a 7 unidades logarítmicas, lo que resulta efectivo para el mango y permite considerarlo con un alimento adicionado con microorganismos probióticos. Betoret *et al.*, (2003) han reportado recuentos similares de microorganismos en manzanas impregnadas en leche ($1,7 \cdot 10^7$ UCF/g) y manzanas impregnadas en zumo ($4,5 \cdot 10^5$ UCF/g).

Figura 9. Superficie de respuesta para maximización de *L. casei* para el proceso IV bajo las concentraciones y los espesores evaluados.



1.6.1 Optimización del proceso IV.

La optimización del proceso IV en mango realizado por la metodología de superficie de respuesta se realizó bajo las siguientes restricciones: maximizar UFC/g y manteniendo dentro de los rangos los parámetros de impregnación, lo cual permitió obtener un factor de deseabilidad del 96,6 %. Bajo esta situación, el software fijó las condiciones de operación más adecuadas: [McFarland] = 3,12 y espesor = 7 mm. La validación del modelo, se realizó comparando los valores experimentales a la condición óptima obtenida y los valores teóricos determinados a partir del modelo de superficie de respuesta. La Tabla 8 presenta los valores experimentales a la condición óptima de proceso frente a los valores teóricos predichos por el software.

Tabla 8. Validación del modelo de optimización en el proceso IV de mango impregnado con *L.casei*.

Variable	Valor Experimental	Valor Teórico
X (%)	3,23 ± 0,02	3,35
X ₁ (%)	-7,23 ± 0,01	-7,12
γ ₁ (%)	5,79 ± 0,03	5,8
γ (%)	4,76 ± 0,03	4,45
ε (%)	4,10 ± 0,04	4,44
Log ₁₀ UFC/g	8,02 ± 0,07	8,06

Estos resultados permiten concluir que la matriz de mango Tommy Atkins en forma de láminas, es una estructura apropiada para la adición de compuestos fisiológicamente activos como lo son los probióticos, en su interior en forma efectiva. Esta situación ya ha sido corroborada previamente otros investigadores en la fortificación de mango con calcio (Ostos *et al.*, 2012; Cortes *et al.*, 2007) y en diferentes frutos (Mujica-Paz *et al.*, 2003). Además, Betoret *et al.*, (2003) ha reportado que el proceso IV es adecuado para la vehiculización de microorganismos probióticos al interior de frutas.

1.6.2 Almacenamiento

La Figura 10 presenta los valores medios con los intervalos LSD (95%) de los parámetros fisicoquímicos y físicos en mangos biofortificados con *L. casei* durante el almacenamiento. El ANOVA reportó diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) en la acidez, pH, fuerza de ruptura, L^* , a^* y b^* con respecto al factor tiempo de almacenamiento; mientras que no hubo diferencia ($p > 0,05$) en a_w , y °Brix. El proceso de IV generó cambios en los parámetros fisicoquímicos del mango impregnado (MI) con respecto al mango fresco (MF), donde las propiedades más afectados fueron la fuerza de ruptura: $5,801 \pm 0,964$ N (MF) vs $1,57 \pm 0,4516$ N (MI), L^* : $75,7 \pm 1,2$ (MF) vs $65,1 \pm 4,9$ (MI), y a^* : $4,8 \pm 1,9$ (MF) vs $10,90 \pm 2,9$ (MI). En la Tabla 9 se observan los valores-p obtenidos para las variables fisicoquímicas y físicas.

Figura 10 . Valores medios con los intervalos LSD (95%) de los parámetros fisicoquímicos y físicos en mangos biofortificados con *L. casei* durante el almacenamiento.

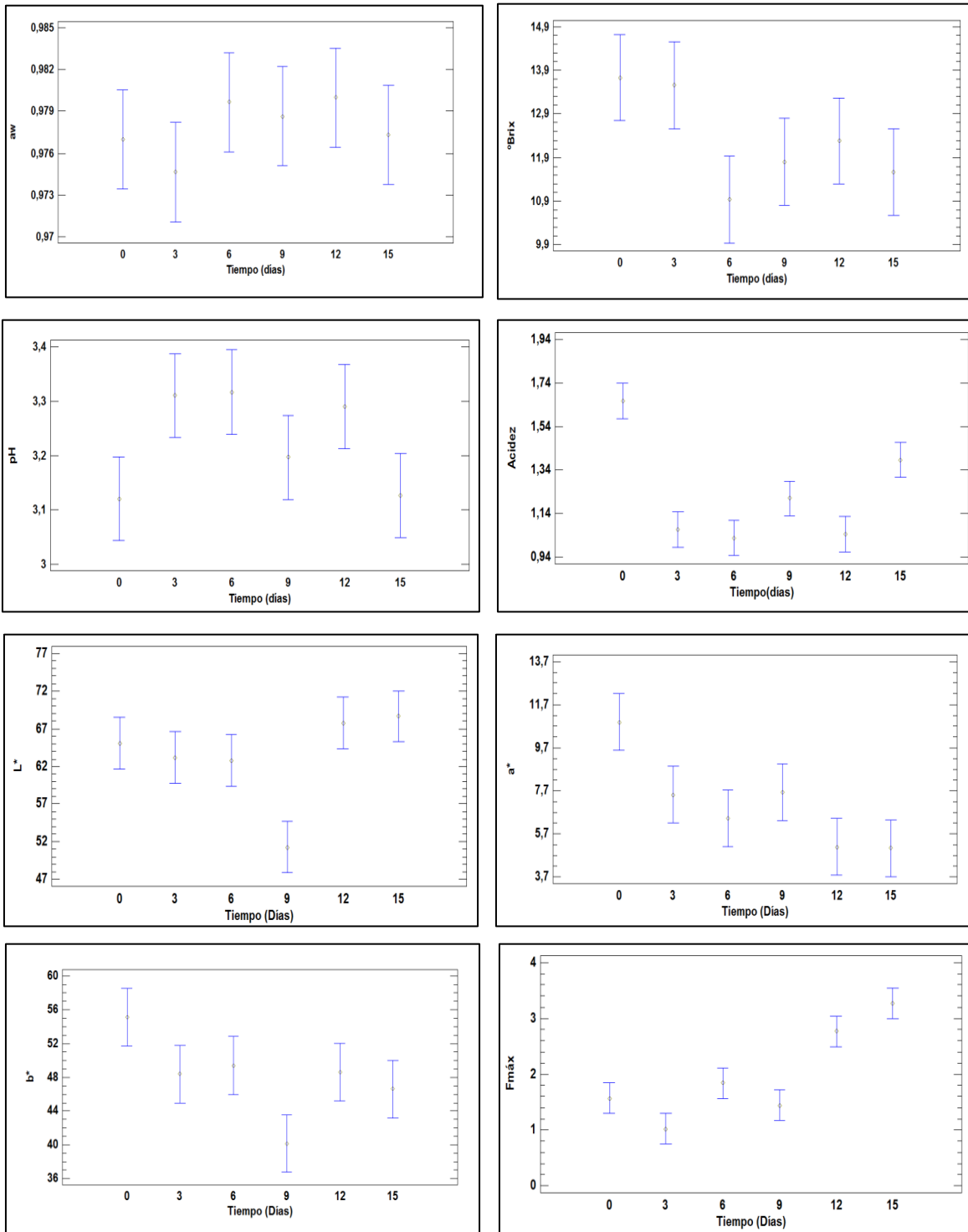


Tabla 9 Valores-p obtenido para las variables fisicoquímicas y físicas

Parámetro	a_w	°Brix	pH	Acidez (%)	Fuerza de ruptura (N)	L^*	a^*	b^*
Valor-p	0,6104	0,0540	0,0424	0,0000	0,0000	0,0002	0,0008	0,0052

La disminución de la fuerza de ruptura en las MI, se atribuye a un debilitamiento del tejido producto del stress mecánico impuesto en la superficie de las muestras por los cambios de presión aplicados. Por otro lado, la disminución de L^* , se atribuye a la mayor absorción de la luz en los espacios intercelulares del MI que se encuentran llenos con el líquido de impregnación y hace ver las muestras más oscuras (Cortés, 2004; Zhao y Zie, 2004); este mismo fenómeno incrementa la cromaticidad a^* . Algunas investigaciones efectuadas en diferentes estructuras vegetales, demuestran que una de las propiedades físicas más afectadas por el proceso IV es el color (Fito *et al.*, 2001; Restrepo *et al.*, 2009), presentándose normalmente una disminución de L^* que hace que las muestras impregnadas sean más oscuras. Otros investigadores han reportados una situación similar en los resultados de la a^* (Restrepo *et al.*, 2009).

Durante el almacenamiento, el comportamiento del pH y la acidez no se consideró muy influenciada por la solución de impregnación con el *L. casei*, siendo coherente ambas y variando dentro de un rango pequeño, (3,05 – 3,4) y (0,95 - 1,75%), respectivamente. Estos pequeños cambios se asocian al proceso fermentativo y la degradación de azúcares (Pereira *et al.*, 2011; Kuwuhara *et al.*, 2004; Kneifel *et al.*, 2000), también son coherentes con las cantidades de solución incorporada al interior de la matriz ($X = 3,35\%$) y con el comportamiento del *L. casei* en la solución G+I+*L. casei*, donde el pH varió de 4,3% hasta (3,2 – 3.3%) y la acidez entre 0,2 - 0,4%.

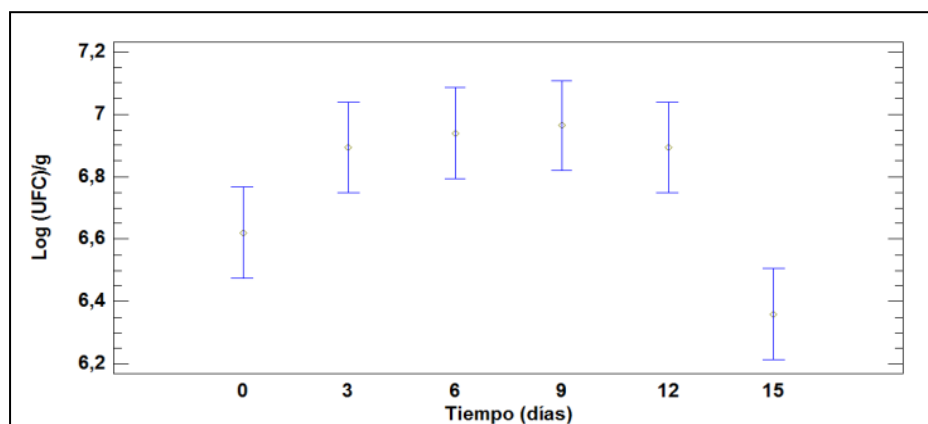
En cuanto a los parámetros de color, la L^* podría considerarse que hay una tendencia de tener un comportamiento homogéneo, excepto en el día 9 que la muestra presentó un valor inferior al resto ($L^* \cong 40$), posiblemente por estar en un nivel de sobremaduración no adecuado o por haber presentado golpes mecánicos durante su transporte. Las

cromaticidades a^* y b^* presentaron un comportamiento similar, disminuyendo con el incremento del tiempo, posiblemente por la degradación de los pigmentos amarillos y rojos propios de los componentes originales del mango, p.e. betacarotenos, antocinainas, entre otros (Reis et al., 2006). Valores de a^* y b^* reportados por Ostos et al., (2012) para la impregnación de mango con calcio, se encuentran dentro del rango de variación del presente estudio. En general, durante el tiempo de almacenamiento evaluado, los cambios de color observados, le confieren una buena conservación de la estructura del mango y mínimos cambios enzimáticos.

Con respecto a la fuerza de ruptura, hay una tendencia a incrementar la dureza de las muestras (0,8 hasta 3,6 N), lo cual es atribuible a la deshidratación que experimenta las muestras por los fenómenos de transferencia de masa que ocurren en el espacio de cabeza (humedad relativa de la Ciudad de Medellín, aproximadamente del 65%) y la muestra con valores de a_w entre 0,0983 y 0,974. Ostos et al., (2012) reporta fuerzas de ruptura en mango impregnado de 5,6 N; seguramente, las diferencias pueden atribuirse a múltiples factores: estado de madurez del mango, formas geométricas empleadas, al acoplamiento del mecanismo hidrodinámico y la deformación - relajación de estructura durante el proceso IV, y a la composición de la solución de impregnación, ente otros.

La Figura 11 presenta los valores medios con los intervalos LSD (95%) de las unidades logarítmicas del *L. casei* en mangos impregnado durante el almacenamiento.

Figura 11. Recuento de UFC/g del mango impregnado durante el almacenamiento



El ANOVA reportó diferencias estadísticas significativas en el recuento de *L. casei* ($p < 0,05$) con respecto al factor tiempo de almacenamiento. Se observa 2 grupos homogéneos, uno conformado por los días 0, 3, 6, 9 y 12 días y otro conformado por el día 15. En el primer grupo hay una tendencia a incrementarse el recuento alcanzando una estabilidad desde el día 3 hasta el día 12, posiblemente por la adaptación con el sustrato completo. A partir del día 12, se observa un descenso; sin embargo, dentro de los 15 días totales de almacenamiento, siempre los niveles fueron mayores de 6 unidades logarítmicas, garantizando la declaración probiótica. Bustamante *et al.*, (2006) afirman que las variaciones en la tasas de crecimiento a través del tiempo obedecen también a parámetros de adaptación de las cepas, el cual no es el mismo que el suministrado en el medio de cultivo, por lo que el número final de UFC podría ser menor. Muchas investigaciones indican que diferentes especies de *Lactobacillus*, *Streptococcus* y *Bifidobacterium* son capaces de metabolizar la inulina y fructooligosacáridos (García *et al.*, 2007; Kaplan y Hutkins 2003; Kaplan y Hutkins 2000).

En general, a pesar de los cambios fermentativos en el producto, este presentó una alta estabilidad con una vida útil viable de 15 días bajo los parámetros fisicoquímicos evaluados. Esta es una ventaja de las frutas con microorganismos probióticos frente a los productos lácteos, los cuales son más fácilmente fermentables, presentando fuertes cambios en las variables fisicoquímicas como el aumento de la acidez, la disminución del pH y °Brix, los cuales son un proceso natural causado por la producción continua de ácido láctico y otros ácidos orgánicos por la fermentación de la lactosa de los cultivos probióticos adicionados (Buriti *et al.*, 2005). Oliveira *et al.*, (2011) indican que la adición de prebióticos y probióticos presenta un efecto sinérgico, mejorador de la textura en productos lácteos aumentando la firmeza.

Un efecto similar pudo haber sido generado, dado que en este estudio se presentaron bajas variaciones en el perfil de textura, expresado como dureza o fuerza de ruptura. Este efecto puede correlacionarse con otras matrices alimentarias donde la inulina es empleada como sustituta de grasa en productos cárnicos emulsificados, mejorando la textura del gel cárnico (Villalobos, *et al.*, 2010).

2. Conclusiones y recomendaciones

2.1 Conclusiones

Los parámetros fisicoquímicos del mango fresco lo identifican como un fruto percedero, con un valor de humedad y a_w alto, que lo caracterizan como un sustrato favorable al crecimiento de microorganismos. Las propiedades físicas de color y textura presentan diferencias con respecto a los valores reportados en la literatura, estas diferencias están relacionadas con la geometría escogida y el estado de madurez de la fruta.

La viabilidad de supervivencia del *L. casei* en condiciones de almacenamiento de 37°C y 15 días, en las diferentes soluciones isotónicas evaluadas fue efectiva; siendo la solución de G+I+ *L. casei* la más estable y alcanzando $11,6 \pm 0,2$ Log UFC/mL.

La Ingeniería de matrices, como metodología de obtención de alimentos funcionales es muy efectiva para la obtención de mango *Tommy Atkins* mínimamente procesado biofortificado con microorganismos de *L. casei*, siendo las propiedades de las soluciones evaluadas y la microestructura del fruto adecuada, para la incorporación de los compuestos fisiológicamente activos, a través del mecanismo hidrodinámico impuesto por los cambios de presión durante el proceso IV. La respuesta a la impregnación a vacío, en cuanto a las variables fracción y deformación volumétrica en cada etapa del proceso y la porosidad efectiva de la matriz y el resultado del análisis estadístico nos indica que la X estuvo dentro del rango de 3 – 4%, no presentó diferencias significativas ($p > 0,05$) con respecto a ninguno de los factores; mientras que si hubo diferencia significativas en $X_{1,\gamma}$, γ_1 , ε y el recuento de *L. casei*, con respecto a la [McFarland] y al espesor.

El mango *Tommy Atkins* impregnado con la solución vehiculizante de G+I+ *L. casei* cumple con los requisitos exigidos por la Resolución 333 de 2011 para su declaración de etiquetado nutricional como fuente de probiótico, alcanzando durante 15 días a temperatura de $4\pm 2^{\circ}\text{C}$, un recuento microbiológico de $6,4\pm 0,1$ ciclos Log UFC/ 150 g mango fresco. En la caracterización del mango impregnado y almacenado durante 15 días, se observa principalmente una influencia del factor tiempo sobre la acidez, pH, fuerza de ruptura, L^* , a^* y b^* ; mientras que no hubo influencia en a_w y $^{\circ}\text{Brix}$. La estructura presenta un debilitamiento del tejido causado por el stress mecánico impuesto en la superficie de las muestras por los cambios de presión aplicados durante el proceso IV; mientras que los mayores cambios de color se relacionan por la disminución de L^* , atribuible a la mayor absorción de la luz del líquido incorporado en los espacios intercelulares del mango impregnado.

2.2 Recomendaciones

Se recomienda realizar en estudios futuros valoraciones microbiológicas y un análisis sensorial que defina la aceptación del producto por parte del consumidor. Por otro lado, se sugiere evaluar la viabilidad de crecimiento del microorganismo a diferentes condiciones de sustrato, teniendo en cuenta otras clase de prebióticos.

Se sugiere investigar otras alternativas o diversificación de productos de mango mínimamente procesado, evaluando tecnologías que reduzcan su actividad de agua y confieran mayor estabilidad.

Bibliografía

Ajila, C. M., Leelavathi, K., and Prasada Rao, U. J. S. (2008). Improvement of dietary fiber content and antioxidant properties in soft dough biscuits with the incorporation of mango peel powder. *Journal of cereal science*, 48(2), 319-326.

Álvarez, D., y Barbut, S. (2013). Effect of inulin, β -Glucan and their mixtures on emulsion stability, color and textural parameters of cooked meat batters. *Meat science*, 94(3), 320-327.

Anino, S. V., Salvatori, D. M., and 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.

AOAC. (1990). *Official Methods of analysis*. 15th Edition. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C., USA.

AOAC. (1996). *Official methods of analysis of AOAC international*. Basic calculations for chemical and biological analyses. Arlington, VA.

Asociación hortifrutícola de Colombia. (1 de Noviembre de 2013). *Plan de Negocios de Mango*. Recuperado el 20 de Octubre de 2014, de Fondo Nacional de Fomento Hortifrutícola:<https://www.ptp.com.co/documentos/PLAN%20DE%20NEGOCIO%20MANGO%20diciembre.pdf>

Asemi, Z., Khorrami-Rad, A., Alizadeh, S. A., Shakeri, H., and Esmailzadeh, A. (2014). Effects of synbiotic food consumption on metabolic status of diabetic patients: a double-blind randomized cross-over controlled clinical trial. *Clinical nutrition*, 33(2), 198-203.

Barclay, T., Ginic-Markovic, M., Cooper, P., y Petrovsky, N., 2010. Inulin – a versatile polysaccharide with multiple pharmaceutical and food chemical uses. *Journal of Excipients and Food Chemistry* 1, 27–50.

Barrentxe, J., Aranguren, P., Grijalba, A., Martínez-Peñuela, J. M., Marzo, F., y Urdaneta, E. (2008). Modulación de la fisiología gastrointestinal mediante cepas probióticas de *Lactobacillus casei* y *Bifidobacterium bifidum*. In *Anales del Sistema Sanitario de Navarra* (Vol. 29, No. 3, pp. 337-347).

Betoret, N., Puente, L., Diaz, M. J., Pagán, M. J., Garcia, M. J., Gras, M. L., y Fito, P. (2003). Development of probiotic-enriched dried fruits by vacuum impregnation. *Journal of food Engineering*, 56(2), 273-277.

Betoret, E., Betoret, N., Arilla, A., Bennár, M., Barrera, C., Codoñer, P., y Fito, P. (2012). No invasive methodology to produce a probiotic low humid apple snack with potential effect against *Helicobacter pylori*. *Journal of Food Engineering*, 110(2), 289-293.

Bibek, R., y Bhunia, A. (2010). *Fundamentos de Microbiología de los Alimentos*. Editorial Mc Graw Hill.

Bonilla, M. H., Toro, J., y Mejía, A. (2010). *Agenda Prospectiva de Investigación y Desarrollo Tecnológico para la Cadena Productiva de mango criollo procesado para exportación en Colombia*. Bogotá DC: *GiroEditores Ltda*

Bugueño, G., Escriche, I., Martínez-Navarrete, N., del Mar Camacho, M., y Chiralt, A. (2003). Influence of storage conditions on some physical and chemical properties of smoked salmon (*Salmon salar*) processed by vacuum impregnation techniques. *Food Chemistry*, 81(1), 85-90.

Buriti, F. C. A., Rocha, J. S., y Saad, S. M. I. (2005). Incorporation of *Lactobacillus acidophilus* in Minas fresh cheese and its implications for textural and sensorial properties during storage. *International Dairy Journal*, 15(12), 1279–1288.

Buriti, F. C., Cardarelli, H. R., Filisetti, T. M., y Saad, S. M. (2007). Synbiotic potential of fresh cream cheese supplemented with inulin and *Lactobacillus paracasei* in co-culture with *Streptococcus thermophilus*. *Food chemistry*, 104(4), 1605-1610

Bustamante, P., Mayorga, L., Ramírez, H., Martínez, P., Barranco, E., y Azaola, A. (2006). Evaluación microbiológica de compuestos con actividad prebiótica. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 37(2), 5-10.

Cháfer, M., González-Martínez, C., Chiralt, A., y Fito, P. (2003). Microstructure and vacuum impregnation response of citrus peels. *Food Research International*, 36(1), 35-41.

Champagne, C. P., Gardner, N. J., y Roy, D. (2005). Challenges in the addition of probiotic cultures to foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45, 61–84.

Closa-Monasterolo, R., Gispert-Llaurado, M., Luque, V., Ferre, N., Rubio-Torrents, C., Zaragoza-Jordana, M., y Escribano, J. (2013). Safety and efficacy of inulin and oligofructose supplementation in infant formula: Results from a randomized clinical trial. *Clinical Nutrition*, 32(6), 918-927.

Coda, R., Rizzello, C. G., Trani, A., y Gobbetti, M. (2011). Manufacture and characterization of functional emmer beverages fermented by selected lactic acid bacteria. *Food microbiology*, 28(3): 526-536.

Colombia. Ministerio de la protección social (2011). Resolución ministerial N°33: reglamento técnico sobre los requisitos de rotulado o etiquetado nutricional que deben cumplir los alimentos envasados para consumo humano.

Cortés M. (2004). Desarrollo de productos de manzana deshidratados enriquecidos con vitamina E [Tesis Doctoral]. Universidad Politécnica de Valencia-España.

Cortes, M., Guardiola, I. f., y Pacheco, r. (2007). Aplicación de la ingeniería de matrices en la fortificación de mango (*var. Tommy Atkins*) con calcio. *dyna*, 153(1), 19-26.

Cortés, M., Ruíz M. y Henríquez, L.E. (2010). Efecto de dos atmósferas de empaque en hongos comestibles (*Pleurotus ostreatus. L.*) tratados mediante impregnación a vacío con una solución conservante. *VITAE*, Volumen 17 número 1: 11-19

Dávila R. Aplicación de la ingeniería de matrices en el desarrollo de plátano (*Musa paradisiaca*) verde mínimamente procesado. [Tesis de Maestría]. Colombia: Universidad Nacional de Colombia, Departamento Ingeniería Agrícola y Alimentos; 2009.

De Preter, V., Hamer, H. M., Windey, K., y Verbeke, K. (2011). The impact of pre-and/or probiotics on human colonic metabolism: Does it affect human health?. *Molecular nutrition & food research*, 55(1), 46-57

Espinoza, Y. R., y Navarro, Y. G. (2010). Non-dairy probiotic products. *Food Microbiology*, 27(1), 1-10.

Evageliou, V., Tseliou, G., Mandala, I., y Komaitis, M. (2010). Effect of inulin on texture and clarity of gellan gels. *Journal of food engineering*, 101(4), 381-385.

Fito, P., Chiralt, A., Betoret, N., Gras, M., Cháfer, M., Martínez-Monzó, J., y Vidal, D. (2001a). Vacuum impregnation and osmotic dehydration in matrix engineering: Application in functional fresh food development. *Journal of Food Engineering*, 49(2), 175-183.

Fito, P., Chiralt, A., Barat, J. M., Andrés, A., Martínez-Monzó, J., y Martínez-Navarrete, N. (2001b). Vacuum impregnation for development of new dehydrated products. *Journal of Food Engineering*, 49(4), 297-302.

Franck, A. (2002). Technological functionality of inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition*, 87(S2), S287-S291

García, Y., Boucourt, R., y Albelo, N. (2007). Fermentación de inulina por bacterias ácido lácticas... *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 41(3), 263.

Gibson, G.R., y Roberfroid M.B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microflora: introducing the concept of prebiotics *J Nutr*; 125: 1401–12.

Gill, H. S., y Guarner, F. (2004). Probiotics and human health: a clinical perspective. *Postgraduate Medical Journal*, 80(947), 516-526.

Giraffa, G., Chanishvili, N., y Widyastuti, Y. (2010). Importance of *lactobacilli* in food and feed biotechnology. *Research in microbiology*, 161(6), 480-487

Giraldo, G., Duque, A., y Padilla, L. (2007). Impregnación de mango con probióticos. In VIII Congreso de estudiantes de Química. Cali: Universidad del Valle.

Giraldo, G., Talens, P., Fito, P., y Chiralt, A. (2003). Influence of sucrose solution concentration on kinetics and yield during osmotic dehydration of mango. *Journal of Food Engineering*, 58(1), 33-43.

Giraldo, G., Vázquez, R., Martín-Esparza, M. E., y Chiralt, A. (2006). Rehydration kinetics and soluble solids lixiviation of candied mango fruit as affected by sucrose concentration. *Journal of food engineering*, 77(4), 825-834.

Glibowski, P., Pikus, S., Jurek, J., y Kotowoda, M. (2014). Factors affecting inulin crystallization after its complete dissolution. *Carbohydrate Polymers*, 110, 107-112

González-Martínez, C., Chafer, M., Fito, P., y Chiralt, A. (2002). Development of salt profiles on Manchego type cheese during brining. Influence of vacuum pressure. *Journal of Food Engineering*, 53(1), 67-73.

Grajek, W., Olejnik, A., y Sip, A. (2005). Probiotics, prebiotics and antioxidants as functional foods. *Acta biochimica polonica-english edition-*, 52(3), 665.

Gras, M., Vidal-Brotóns, N., Betoret, A., y Fito, P. (2002). The response of some vegetables to vacuum impregnation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 3(3), 263-269

Harish, K., y Varghese, T. (2006). Probiotics in humans—evidence based review. *Calicut Med J*, 4(4), e3.

Hori T. Cho. “Probiotics Recent Human Studies Using *Lactobacillus casei* strain”. (2009). In: *Handbook of prebiotics and probiotics ingredients: health benefits and food applications* Edited by: Shirota S. S., & Finocchiaro, T. (Eds.). CRC Press.

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. Norma Técnica Colombiana. NTC 4623. Productos de frutas y verduras. Determinación de la acidez titulable. Bogotá: ICONTEC; 1999.

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. Norma Técnica Colombiana. NTC 4624. Jugos de frutas y hortalizas. Determinación del contenido de sólidos solubles. Método refractométrico. Bogotá: ICONTEC.

Jenkins D, Kendall C, Vuksan W. Inulin, oligofructose and intestinal function. *J Nutr* 1999; 129: 1431-1433.

Kaplan, H. y Hutkins, R. 2000. Fermentation of fructooligosaccharides by lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Appl. Env. Microbiol* :66: 2682

Kaplan, H. y Hutkins, R. 2003. Metabolism of fructooligosaccharides by *Lactobacillus paracasei* 1195. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 2217

Kligler, B., Hanaway, P., y Cohrssen, A. (2007). Probiotics in children. *Pediatric Clinics of North America*, 54(6), 949-967

Kneifel, W., Rajal, A. y Kulbe, D. 2000. In vitro growth behaviour of probiotic bacteria in culture media with

Kuwahara, T., Yamashita, A., Hirakawa, H., Nakayama, H, Toh, H., Okada, N., Buhara, S., Hattori, M., Hayashi, T. y Ohrishi, Y. (2004). Genomic analysis of *Bacteroides fragilis* reveals extensive DNA inversions regulating cell surface adaptation. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 101: 1491

Luana, N., Rossana, C., Antonio, C. J., Kaisa, P., Marco, G., y Giuseppe, R. C. (2014). Manufacture and characterization of a yogurt-like beverage made with oat flakes fermented by selected lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*

Madrigal, L., y Sangronis, E. (2007). La inulina y derivados como ingredientes claves en alimentos funcionales. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 57(4), 387-396

Mantzouridou, F., Spanou, A., y Kiosseoglou, V. (2012). An inulin-based dressing emulsion as a potential probiotic food carrier. *Food Research International*, 46(1), 260-269.

Marín, Z. T., Cortés, M., y Montoya, O. I. (2010a). Evaluación sensorial de uchuva (*physalis peruviana l.*) ecotipo colombia impregnada con la cepa nativa *lactobacillus plantarum* LBPM10 y la cepa comercial *lactobacillus casei* atcc 393. *Vitae* (Medellín), 17(1), 21-28.

Marín, Z. T., Cortés, M., y Montoya, O. I. (2010b). Uchuva (*Physalis peruviana* L.) ecotipo Colombia, mínimamente procesada inoculada con la cepa nativa *Lactobacillus plantarum* LPBM10 mediante la técnica de impregnación a vacío. *Revista chilena de nutrición*, 37(4), 461-472.

Marín, Z. T., Cortés, M., y Montoya, O. I. (2009). Evaluación de la viabilidad de crecimiento de la cepa nativa *Lactobacillus plantarum* LPBM 10 y la cepa comercial *Lactobacillus casei* ATCC 393 en pulpa de uchuva y en solución isotónica de glucosa. *Vitae* (Medellín), 16(2), 210-217.

Marín Z. Viabilidad de desarrollo de uchuva (*Physalis peruviana* L.) mínimamente procesada enriquecida con microorganismos probióticos a partir de la ingeniería de matrices. [Tesis de Maestría]. Colombia: Universidad Nacional de Colombia, Departamento Ingeniería Agrícola y Alimentos; 2009.

Martelo, Y., Rodríguez, M. C., y Molina, D. R. (2011). Dinámica de impregnación al vacío en apio (*Apium graveolens* L.) y pepino (*Cucumis sativus* L.). *Revista MVZ Córdoba*, 16(2), 2584-2592.

Martelo, Y.; Cortes, R. y Restrepo, D.A. (2011). Dinámica de impregnación al vacío en apio (*Apium graveolens* L.) y pepino (*Cucumis sativus* L.). *Revista MVZ Córdoba*, Volumen 16 No.2: 2584 – 2592.

Mårtensson, O., Öste, R., y Holst, O. (2000). Lactic acid bacteria in an oat-based non-dairy milk substitute: fermentation characteristics and exopolysaccharide formation. *LWT-Food Science and Technology*, 33(8), 525-530.

Meyer, D., Bayarri, S., Tárrega, A., y Costell, E. (2011). Inulin as texture modifier in dairy products. *Food Hydrocolloids*, 25(8), 1881-1890.

Mujica-Paz, H., Valdez-Fragoso, A., López-Malo, A., Palou, E., y Welti-Chanes, J. (2003). Impregnation and osmotic dehydration of some fruits: effect of the vacuum pressure and syrup concentration. *Journal of food engineering*, 57(4), 305-314.

Naito, S., Koga, H., Yamaguchi, A., Fujimoto, N., Hasui, Y., Kuramoto, H., y Kinukawa, N. (2008). Prevention of recurrence with epirubicin and *Lactobacillus casei* after transurethral resection of bladder cancer. *The Journal of urology*, 179(2), 485-490.

Oliveira, R. P. D. S., Perego, P., Oliveira, M. N. D., y Converti, A. (2011). Effect of inulin as prebiotic and synbiotic interactions between probiotics to improve fermented milk firmness. *Journal of Food Engineering*, 107(1), 36-40

Ostos, S. L., Díaz, A. C., y Suarez, H. (2012). Evaluación de Diferentes Condiciones de Proceso en la Fortificación de Mango (Tommy Atkins) con Calcio Mediante Impregnación a Vacío. *Revista chilena de nutrición*, 39(2), 181-190.

Parvez, S., Malik, K. A., Ah Kang, S., y Kim, H. Y. (2006). Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *Journal of applied microbiology*, 100(6), 1171-1185.

Pavia, M., Trujillo, A. J., Sendra, E., Guamis, B., y Ferragut, V. (2000). Free fatty acid content of Manchego-type cheese salted by brine vacuum impregnation. *International dairy journal*, 10(8), 563-568.

Pereira, A. L. F., Maciel, T. C., y Rodrigues, S. (2011). Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with (*Lactobacillus casei*). *Food research international*, 44(5), 1276-1283

Prado, F. C., Parada, J. L., Pandey, A., y Soccol, C. R. (2008). Trends in non-dairy probiotic beverages. *Food Research International*, 41(2), 111-123

Puente D, L., Betoret V, N., y Cortés R, M. (2009). Evolution of probiotic content and color of apples impregnated with lactic acid bacteria. *Vitae*, 16(3), 297-303.

Rabiu B. A., Jay A. J., Gibson G. R., y Rastal R. A. 2001. Synthesis and fermentation properties of novel galacto-oligosaccharides by beta-galactosidase from bifidobacterium species. *Applied Environmental Microbiology*, 67:2526-2530.

Reis, R. C., Ramos, A. M., Regazzi, A. J., Minim, V. P. R., y Stringueta, P. C. (2006). Almacenamiento de mango secado: análisis fisicoquímico, microbiológico, color y sensorial -*Journal of Food*, 5(3), 214-225.

Restrepo, A. M., Cortés, M., y Rojano, B. A. (2010). Potenciación de la capacidad antioxidante de fresa (*Fragaria ananassa* Duch.) por incorporación de vitamina E utilizando la técnica de impregnación a vacío. *Vitae (Medellín)*, 17(2), 135-140.

Restrepo, A. M.; Cortés M., y Suárez H. (2009). Evaluación sensorial de fresa (*Fragaria ananassa* Duch.) y uchuva (*Physalis peruviana* L.) fortificada con vitamina E. Revista Facultad Nacional de Agronomía, Volumen 61 (2): 2267 – 2275.

Rivera-Espinoza, Y., y Gallardo-Navarro, Y. (2010). Non-dairy probiotic products. Food Microbiology, 27(1), 1-11.

Roberfroid, M. B. (2000). Prebiotics and probiotics: are they functional foods?. The American journal of clinical nutrition, 71(6), 1682s-1687s

Roberfroid, M. B. (2002). Functional foods: concepts and application to inulin and oligofructose. British Journal of Nutrition, 87(S2), S139-S143.

Rodríguez, M. B. S., Megías, S. M., y Baena, B. M. (2003). Alimentos funcionales y nutrición óptima. ¿Cerca o lejos?. Rev Esp Salud Pública, 77(3), 317-331

Rodríguez, L. F., y Bermúdez, L. T. (2011). Competitividad del sistema de producción de mango 'Tommy Atkins' en Cundinamarca (La Mesa, Anapoima y Tocaima). Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas, 5

Salvatori, D., Andres, A., Chiralt, A., y Fito, P. (1998). The response of some properties of fruits to vacuum impregnation. Journal of Food Process Engineering, 21(1), 59-73.

Ruiz, M, Cortes R, M y Henriquez A, E. Efecto de dos atmósferas de empaque en hongos comestibles (*pleurotus ostreatus* l.) tratados mediante impregnación a vacío con una solución conservante. Vitae [online]. 2010, vol.17, n.1 [cited 2014-10-13], pp. 11-19

Shah, N. S., y Nath, N. (2008). Changes in qualities of minimally processed litchis: Effect of antibrowning agents, osmo-vacuum drying and moderate vacuum packaging. LWT- Food Science and Technology, 41(4), 660-668

Sothornvit, R., y Rodsamran, P. (2008). Effect of a mango film on quality of whole and minimally processed mangoes. *Postharvest Biology and Technology*, 47(3), 407-415.

Sutula, J., Coulthwaite, L., y Verran, J. (2012). Culture media for differential isolation of *Lactobacillus casei* Shirota from oral samples. *Journal of microbiological methods*, 90(1), 65-71.

Takahashi, T., Kushiro, A., Nomoto, K., Uchida, K., Morotomi, M., Yokokura, T., y Akaza, H. (2001). Antitumor effects of the intravesical instillation of heat killed cells of the *Lactobacillus casei* strain Shirota on the murine orthotopic bladder tumor MBT-2. *The Journal of urology*, 166(6), 2506-2511.

Takeda, K., y Okumura, K. (2007). Effects of a fermented milk drink containing *Lactobacillus casei* strain Shirota on the human NK-cell activity. *The Journal of nutrition*, 137(3), 791S-793S.

Talens, P., Escriche, I., Martínez-Navarrete, N., y Chiralt, A. (2002a). Study of the influence of osmotic dehydration y freezing on the volatile profile of strawberries. *Journal of food science*, 67(5), 1648-1653.

Talens, P., Escriche, I., Martínez-Navarrete, N., y Chiralt, A. (2003). Influence of osmotic dehydration and freezing on the volatile profile of kiwi fruit. *Food Research International*, 36(6), 635-642.

Talens, P., Martínez-Navarrete, N., Fito, P., y Chiralt, A. (2002b). Changes in optical and mechanical properties during osmodehydrofreezing of kiwi fruit. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 3(2), 191-199.

Tripathi, M. K., y Giri, S. K. (2014). Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods*, 9, 225-241

Van der Meulen R., Avonts L., y De Vuyst L. 2003. Short fractions of oligofructose are preferentially metabolized by *Bifidobacterium animalis* DN-170 010. *Applied Environmental Microbiology*, 70:1923-1930

Vargas, R. H. V. (2010). Obtención y caracterización de un pasabocas a partir de una pasta a base de mango mediante fritura por inmersión. *Revista Tumbaga*, 1(5).

Vergara-Valencia, N., Granados-Pérez, E., Agama-Acevedo, E., Tovar, J., Ruales, J., y Bello-Pérez, L. A. (2007). Fibre concentrate from mango fruit: Characterization, associated antioxidant capacity and application as a bakery product ingredient. *LWT-Food Science and Technology*, 40(4), 722-729.

Villamizar, R. H., Quinceno, M. C., y Giraldo, G. A. (2011). Comparación de la fritura al vacío y atmosférica en la obtención de pasabocas de mango (*Manguifera indica* L.). *Temas Agrarios*, 16(1).

Villalobos, C. E. V., Simental, S. S., y Delgado, L. H. V. (2010). Efecto de la fibra dietética sobre la textura de salchichas tipo Viena. *Nacameh*, 4(2), 37-43.

Young, R. and Huffman, S. (2003). Probiotic use in children. *Journal of pediatric health care*. 17: 277-283.

Zhao, Y., y Xie, J. (2004). Practical applications of vacuum impregnation in fruit and vegetable processing. *Trends in Food Science & Technology*, 15(9), 434-451

Ziobro, R., Korus, J., Juszczak, L., y Witczak, T. (2013). Influence of inulin on physical characteristics and staling rate of gluten-free bread. *Journal of Food Engineering*, 116(1), 21-27

Bibliografía de la introducción

Ajila, C. M., Leelavathi, K., y Prasada Rao, U. J. S. (2008). Improvement of dietary fiber content and antioxidant properties in soft dough biscuits with the incorporation of mango peel powder. *Journal of cereal science*, 48(2), 319-326.

Alzamora, S. M., Salvatori, D., 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), 205-214.

Arihara, K. (2006). Strategies for designing novel functional meat products. *Meat Science*, 74(1), 219-229.

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.

Arai, S. (2000). Functional food science in Japan: state of the art. *Biofactors*, 12(1), 13-16.

Asahara, T., Nomoto, K., Shimizu, K., Watanuki, M., y Tanaka, R. (2001). Increased resistance of mice to *Salmonella enterica* serovar Typhimurium infection by synbiotic administration of *Bifidobacteria* and transgalactosylated oligosaccharides. *Journal of Applied Microbiology*, 91(6), 985-996.

Balcázar-Muñoz, B. R., Martínez-Abundis, E., y González-Ortiz, M. (2003). Efecto de la administración oral de inulina sobre el perfil de lípidos y la sensibilidad a la insulina en individuos con obesidad y dislipidemia. *Revista médica de Chile*, 131(6), 597-604.

Barrentxe, J., Aranguren, P., Grijalba, A., Martínez-Peñuela, J. M., Marzo, F., y Urdaneta, E. (2008). Modulación de la fisiología gastrointestinal mediante cepas probióticas de *Lactobacillus casei* y *Bifidobacterium bifidum*. In *Anales del Sistema Sanitario de Navarra* (Vol. 29, No. 3, pp. 337-347).

Betoret, N., Puente, L., Díaz, M. J., Pagán, M. J., García, M. J., Gras, M. L., y Fito, P. (2003). Development of probiotic-enriched dried fruits by vacuum impregnation. *Journal of Food Engineering*, 56(2), 273-277

Betoret, E., Betoret, N., Vidal, D., y Fito, P. (2011). Functional foods development: Trends and technologies. *Trends in Food Science & Technology*, 22(9), 498-508.

Bigliardi, B., y Galati, F. (2013). Innovation trends in the food industry: the case of functional foods. *Trends in Food Science & Technology*, 31(2), 118-129.

Bonilla, M. H., Toro, J., y Mejía, A. (2010). Agenda Prospectiva de Investigación y Desarrollo Tecnológico para la Cadena Productiva de mango criollo procesado para exportación en Colombia. *Bogotá DC: GiroEditores Ltda.*

Briceño, S., Zambrano, J., Materano, W., Quintero, I., y Valera, A. (2005). Calidad de los frutos de mango 'bocado', madurados en la planta y fuera de la planta cosechados en madurez fisiológica. *Agronomía Tropical*, 55(4), 461-473.

Bustamante, P., Mayorga, L., Ramírez, H., Martínez, P., Barranco, E., y Azaola, A. (2006). Evaluación microbiológica de compuestos con actividad prebiótica. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 37(2), 5-10.

Cano-Chauca, M., Stringheta, P. C., Ramos, A. M., y Cal-Vidal, J. (2005). Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6(4), 420-428.

Camire M, Cho S, Craig S, Devrie J, Gordon D, Jones J, Li B, Lineback D, Prosky L, y Tunghland B. (2001). The definition of dietary fiber. *Cereal Foods World*; 46: 112-126

Carlsson, A. S., Zhu, L. H., Andersson, M., y Hofvander, P. (2014). Platform crops amenable to genetic engineering—a requirement for successful production of bio-industrial oils through genetic engineering. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 3(1), 58-64.

Castor, L. L. INULINA: Polisacárido con interesantes beneficios a la salud humana y con aplicación en la industria farmacéutica.

Castro, L. Á., y De Rovetto, C. (2013). Probióticos: utilidad clínica.; 37: 308-314

Chaito, C., Judprasong, K., y Puwastien, P. (2014). Inulin content of fortified food products in thailand. *Food Chemistry*.

Chafer, M., Ortola, M. D., Chiralt, A., y Fito, P. (2001). Orange peel products obtained by osmotic dehydration. *Osmotic Dehydration and Vacuum Impregnation: Application in Food Industries*, 93-104.

Cháfer, M., González-Martínez, C., Chiralt, A., y Fito, P. (2003). Microstructure and vacuum impregnation response of citrus peels. *Food Research International*, 36(1), 35-41.

Champagne, C. P., Gardner, N. J., y Roy, D. (2005). Challenges in the addition of probiotic cultures to foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(1), 61-84.

Chiralt, A., Fito, P., Andrés, A., Barat, J. M., Martínez-Monzó, J., y Martínez-Navarrete, N. (1999). Vacuum impregnation: a tool in minimally processing of foods. *Processing of foods: Quality optimization and process assesment*, 341-356.

Coda, R., Rizzello, C. G., Trani, A., y Gobbetti, M. (2011). Manufacture and characterization of functional emmer beverages fermented by selected lactic acid bacteria. *Food microbiology*, 28(3): 526-536.

Cortés, M., García, A., y Suarez, H. (2007). Fortificación de hongos comestibles (*Pleurotus ostreatus*) con calcio, selenio y vitamina C. *Vitae (Medellín)*, 14(1), 16-24.

Cortés, M., Chiralt, A., y Puente, L. (2005). Alimentos funcionales: una historia con mucho presente y futuro. *Vitae*, 12(1), 5-14.

Costanigro, M., y Lusk, J. L. (2014). The signaling effect of mandatory labels on genetically engineered food. *Food Policy*, 49, 259-267.

Crosa, M. J., Harispe, R., Mussio, P., Pelaggio Ettlin, R., Repiso, L., y Silvera, C. (2011). Comparación de los cambios químicos y microbiológicos en la maduración del queso Colonia salado tradicionalmente y por impregnación al vacío. *INNOTEC*, (4), 22-27.

De Preter, V., Hamer, H. M., Windey, K., y Verbeke, K. (2011). The impact of pre-and/or probiotics on human colonic metabolism: Does it affect human health?. *Molecular nutrition & food research*, 55(1), 46-57

Domínguez, M. R. (2006). La biotecnología en plantas y aspectos biotecnológicos del mango. *Interciencia: Revista de ciencia y tecnología de América*, 31(2), 95-100.

El-Zoghbi, M. (1994). Biochemical changes in some tropical fruits during ripening. *Food chemistry*, 49(1), 33-37.

FAO. Mango, Post-Harvest Operations. Fao.org 2002. http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/inpho/docs/Post_Harvest_Compendum_-_Mango.pdf

Fito, P., y Pastor, R. (1994). Non-diffusional mechanisms occurring during vacuum osmotic dehydration. *Journal of Food Engineering*, 21(4), 513-519.

Fito, P. (1994). Modelling of vacuum osmotic dehydration of food. *Journal of Food Engineering*, 22(1), 313-328.

Fito, P., Andrés, A., Chiralt, A., y Pardo, P. (1996). Coupling of hydrodynamic mechanism and deformation-relaxation phenomena during vacuum treatments in solid porous food-liquid systems. *Journal of Food Engineering*, 27(3), 229-240.

Friedeck, K. G., Aragul-Yuceer, Y. K., y Drake, M. A. (2003). Soy Protein Fortification of a Low-fat Dairy-based Ice Cream. *Journal of food science*, 68(9), 2651-2657.

García, Y., Boucourt, R., y Albelo, N. (2007). Fermentación de inulina por bacterias ácido lácticas... *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 41(3), 263.

Gibson, G. R., Probert, H. M., Van Loo, J., Rastall, R. A., y Roberfroid, M. B. (2004). Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutr Res Rev*, 17(2), 259-275.

Gill, H. S., y Guarner, F. (2004). Probiotics and human health: a clinical perspective. *Postgraduate Medical Journal*, 80(947), 516-526.

Giraldo, G., Talens, P., Fito, P., y Chiralt, A. (2003). Influence of sucrose solution concentration on kinetics and yield during osmotic dehydration of mango. *Journal of Food Engineering*, 58(1), 33-43.

Giraldo, G., Vázquez, R., Martín-Esparza, M. E., y Chiralt, A. (2006). Rehydration kinetics and soluble solids lixiviation of candied mango fruit as affected by sucrose concentration. *Journal of food engineering*, 77(4), 825-834.

Giraffa, G., Chanishvili, N., y Widyastuti, Y. (2010). Importance of lactobacilli in food and feed biotechnology. *Research in microbiology*, 161(6), 480-487.

Glibowski, P., Pikus, S., Jurek, J., y Kotowoda, M. (2014). Factors affecting inulin crystallization after its complete dissolution. *Carbohydrate Polymers*, 110, 107-112.

González-Martínez, B. E., Gómez-Treviño, M., y Jiménez-Salas, Z. (2003). Bacteriocinas de probióticos. *Rev. Salud Pública y Nutrición*, 4 :99-106.

Grajek, W., Olejnik, A., y Sip, A. (2005). Probiotics, prebiotics and antioxidants as functional foods. *Acta Biochimica Polonica-English Edition*-, 52(3), 665.

Gras, M., Vidal-Brotóns, N., Betoret, A., y Fito, P. (2002). The response of some vegetables to vacuum impregnation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 3(3), 263-269.

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, 279–284.

Hollingsworth, P.; Hicks, K.B. y Moreau, R.A. (2001). Development of cholesterol-fighting food. *Food Technology*, 55: 59-67.

Ishikawa, H., Akedo, I., Otani, T., Suzuki, T., Nakamura, T., Takeyama, I., y Kakizoe, T. (2005). Randomized trial of dietary fiber and *Lactobacillus casei* administration for prevention of colorectal tumors. *International journal of cancer*, 116(5), 762-767.

IMAI, Y.; Tomonari, O.; Chiho, T.; Masatochi, K.; y Hidero, T. (1996). Food Additive and use thereof. Amano Pharmaceutical Co Ltd., Nagoya, Japan: 31. USA patent 5.514.398

Harish, K., y Varghese, T. (2006). Probiotics in humans—evidence based review. *Calicut Med J*, 4(4), e3

Hironaka, K., Kikuchi, M., Koaze, H., Sato, T., Kojima, M., Yamamoto, K., y Tsuda, S. (2011). Ascorbic acid enrichment of whole potato tuber by vacuum-impregnation. *Food Chemistry*, 127(3), 1114-1118.

Hori T. Cho. “Probiotics Recent Human Studies Using *Lactobacillus casei* strain”. (2009). In: *Handbook of prebiotics and probiotics ingredients: health benefits and food applications* Edited by: Shirota S. S., & Finocchiaro, T. (Eds.). CRC Press.

Jenkins DJ, Axelsen M, Kendall CW, Agustín LS, Vuksan V, Smith U. Dietary fiber, lente carbohydrates and the insulin-resistant diseases. *Br J Nutr* 2000; 83(suppl 1):157S-63S

Kajiwara, S., Gandhi, H., y Ustunol, Z. (2002). Effect of honey on the growth of and acid production by human intestinal *Bifidobacterium* spp.: an in vitro comparison with commercial oligosaccharides and inulin. *Journal of Food Protection®*, 65(1), 214-218.

Khan, R. S., Grigor, J., Winger, R., y Win, A. (2013). Functional food product development—Opportunities and challenges for food manufacturers. *Trends in Food Science & Technology*, 30(1), 27-37.

Kligler, B., Hanaway, P., y Cohrssen, A. (2007). Probiotics in children. *Pediatric Clinics of North America*, 54(6), 949-967

Kostermans, AJGH y Bompard, JM 1994. The mangoes, their botany, nomenclature, horticulture and utilization. Academic Press, London. 233 pages. ISBN 0-12-421920-9. Price£ 35 (hardback). *Journal of Tropical Ecology*, 11(03), 428-428.

Labib, A. A., El-Ashwah, F. A., Omran, H. T., y Askar, A. (1995). Heat-inactivation of mango pectinesterase and polygalacturonase. *Food chemistry*, 53(2), 137-142.

Lopez-Rubio, A., Gavara, R., y Lagaron, J. M. (2006). Bioactive packaging: turning foods into healthier foods through biomaterials. *Trends in Food Science & Technology*, 17(10), 567-575.

London Ontario, Canada 30 April-1 May 2002. Report of a joint FAO/WHO working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food

Madrigal, L., y Sangronis, E. (2007). La inulina y derivados como ingredientes claves en alimentos funcionales. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 57(4), 387-396.

Maheshwari, P., y Kovalchuk, I. (2014). Genetic engineering of oilseed crops. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 3(1), 31-37.

Martinez-Monzo, J., Martinez-Navarrete, N., Chiralt, A., y Fito, P. (1998). Osmotic dehydration of apple as affected by vacuum impregnation with HM pectin. In *Proceedings of the 11th International Drying Symposium (IDS'98)*, Thessaloniki, Greece (pp. 836-843).

Milner JA. Functional foods: the US perspective. *Am J Clin Nutr* 2000; 71(suppl):1654S-9S.

Mosqueda-Vázquez, R., de los Santos, F., Becerra-Leor, E. N., Cabrera-Mireles, H., Ortega-Zaleta, D. A., y del Ángel-Pérez, A. L. (1996). Manual para cultivar mango en la planicie costera del Golfo de México. *Folleto técnico*, (15).

Mujica-Paz, H., Valdez-Fragoso, A., López-Malo, A., Palou, E., y Welti-Chanes, J. (2003). Impregnation and osmotic dehydration of some fruits: effect of the vacuum pressure and syrup concentration. *Journal of food engineering*, 57(4), 305-314.

Muñoz Ohmen, S. Á., Restrepo Molina, D. A., y López Vargas, J. H. (2014). Effect of Inulin on Marinated Envelope Brines Including Drip and Sensory Quality of Chicken Breasts. *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín*, 67(1), 7219-7228.

Muñoz Ohmen, S. A. (2012). Efectos reológicos y sensoriales de la inclusión de inulina en pechugas de pollo marinadas (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín).

Ohashi, Y., Nakai, S., Tsukamoto, T., Masumori, N., Akaza, H., Miyanaga, N., y Aso, Y. (2002). Habitual intake of lactic acid bacteria and risk reduction of bladder cancer. *Urologia internationalis*, 68(4), 273-280.

Ostos, S. L., Díaz, A. C., y Suarez, H. (2012). Evaluación de Diferentes Condiciones de Proceso en la Fortificación de Mango (Tommy Atkins) con Calcio Mediante Impregnación a Vacío. *Revista chilena de nutrición*, 39(2), 181-190.

Panarese, V., Rocculi, P., Baldi, E., Wadsö, L., Rasmusson, A. G., y Galindo, F. G. (2014). Vacuum impregnation modulates the metabolic activity of spinach leaves. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*.

Parvez, S., Malik, K.A., Ah kang, S., KIM, H.-Y. (2006). Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *Journal of Applied Microbiology*, v. 100, n. 6, p. 1171-1185.

Pešek, M., Y Pavelek, M. (2012). Determination of needed parameters for measuring temperature fields in air by thermography. In *EPJ Web of Conferences* (Vol. 25, p. 01069). EDP Sciences.

Pereira, A. L. F., Maciel, T. C., y Rodrigues, S. (2011). Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with *Lactobacillus casei*. *Food research international*, 44(5), 1276-1283

Pophaly, S. D., Singh, P., Kumar, H., Tomar, S. K., y Singh, R. (2014). Selenium enrichment of lactic acid bacteria and bifidobacteria: A functional food perspective. *Trends in Food Science & Technology*

Prado, F. C., Parada, J. L., Pandey, A., y Soccol, C. R. (2008). Trends in non-dairy probiotic beverages. *Food Research International*, 41(2), 111-123

Puente D, L., Betoret V, N., y Cortés R, M. (2009). Evolution of probiotic content and color of apples impregnated with lactic acid bacteria. *Vitae*, 16(3), 297-303.

Quílez, J., García-Lorda, P., y Salas-Salvado, J. (2003). Potential uses and benefits of phytosterols in diet: present situation y future direction. *Clinical Nutrition*, 22(4): 343-351

Ramírez-Suomi, M. O., y Vélez-Ruiz, J. F. (2009). Efecto de la incorporación de estabilizantes en la viscosidad de bebidas lácteas no fermentadas.

Reichert, R.D. (2002). Oilseed medicinals: in natural drugs, dietary supplements and new functional foods. *Trends in Food Science & Technology*, 13: 353-360.

Restrepo, A. M., Cortés, M., y Rojano, B. A. (2010). Potenciación de la capacidad antioxidante de fresa (*Fragaria ananassa* Duch.) por incorporación de vitamina E utilizando la técnica de impregnación a vacío. *Vitae (Medellín)*, 17(2), 135-140.

Rivera-Espinoza, Y., y Gallardo-Navarro, Y. (2010). Non-dairy probiotic products. *Food Microbiology*, 27(1), 1-11.

Roberfroid, M. B. (2000). Prebiotics and probiotics: are they functional foods?. *The American journal of clinical nutrition*, 71(6), 1682s-1687s

Roberfroid M. B. (2000a). Concepts and new strategy of functional food science: the European perspective. *Am J Clin Nutr*; 71(suppl):1660S-4S

Roberfroid M. 1999. Caloric value of inulin and oligofructose. *Journal Nutrition* 129(7): 1436-1437

Roberfroid, M. B. (2002). Functional foods: concepts and application to inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition*, 87(S2), S139-S143

Roberfroid MB. Prebiotics and synbiotics: concepts and nutritional properties. *Br J Nutr* 1998; 80(4):S197-202

Rodríguez-Barona, S., Granada-Orozco, J., y Cruz-Ríos, D. (2011). Comparación de sacarosa, inulina y fructo-oligosacáridos como agentes osmóticos en mora de castilla (*rubus glaucus benth.*). In *II International Conference on Postharvest and Quality Management of Horticultural Products of Interest for Tropical Regions 1016* (pp. 47-51).

Rodríguez, M. B. S., Megías, S. M., y Baena, B. M. (2003). Alimentos funcionales y nutrición óptima. ¿Cerca o lejos?. *Rev Esp Salud Pública*, 77(3), 317-331.

Rosenfeldt, V., Benfeldt, E., Nielsen, S. D., Michaelsen, K. F., Jeppesen, D. L., Valerius, N. H., y Paerregaard, A. (2003). Effect of probiotic *Lactobacillus* strains in children with atopic dermatitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 111(2), 389-395.

Russell, T.A., Drake, M.A., y Gerard, P.D.(2006) Sensory Properties of Whey and Soy Proteins. *Journal of Food Science* 71 (69: S447–S455)

Salmínen, S.; Von Wright, A. (1998). *Lactic Acid Bacteria. Microbiology and Functional aspects*. 2 editions. Marcel Dekker, INC

Schieber, A., Stintzing, F. C., y Carle, R. (2001). By-products of plant food processing as a source of functional compounds—recent developments. *Trends in Food Science & Technology*, 12(11), 401-413

Schulze, B., Hubbermann, E. M., y Schwarz, K. (2014). Stability of quercetin derivatives in vacuum impregnated apple slices after drying (microwave vacuum

drying, air drying, freeze drying) and storage. *LWT-Food Science and Technology*, 57(1), 426-433.

Sergent, E. (1999). El cultivo del mango (" *Mangifera indica*" L.): botánica, manejo y comercialización (Vol. 72). CDCH UCV.

Shah, N. S., y Nath, N. (2008). Changes in qualities of minimally processed litchis: Effect of antibrowning agents, osmo-vacuum drying and moderate vacuum packaging. *LWT-Food Science and Technology*, 41(4), 660-668

Sheng, Y., Qi, X., Liu, Y., Guo, M., Chen, S., He, X., y Xu, W. (2014). Subchronic toxicity study in vivo and allergenicity study in vitro for genetically modified rice that expresses pharmaceutical protein (human serum albumin). *Food and Chemical Toxicology*, 72, 242-246.

Stephen, A. M., y Phillips, G. O. (Eds.). (2010). Food polysaccharides and their applications (Vol. 160). CRC Press

Takahashi, T., Kushiro, A., Nomoto, K., Uchida, K., Morotomi, M., Yokokura, T., y Akaza, H. (2001). Antitumor effects of the intravesical instillation of heat killed cells of the *Lactobacillus casei* strain Shirota on the murine orthotopic bladder tumor MBT-2. *The Journal of urology*, 166(6), 2506-2511.

Teitelbaum, J. E., y Walker, W. A. (2002). Nutritional Impact of Pre-and Probiotics as Protective Gastrointestinal Organisms*. *Annual Review of Nutrition*, 22(1), 107-138.

Tuohy, K. M., Probert, H. M., Smejkal, C. W., y Gibson, G. R. (2003). Using probiotics and prebiotics to improve gut health. *Drug discovery today*, 8(15), 692-700.

Vargas, R. H. V. (2010). Obtención y caracterización de un pasabocas a partir de una pasta a base de mango mediante fritura por inmersión. *Revista Tumbaga*, 1(5).

Verbeke, W. (2005). Consumer acceptance of functional foods: socio-demographic, cognitive and attitudinal determinants. *Food quality and preference*, 16(1), 45-57

Vergara-Valencia, N., Granados-Pérez, E., Agama-Acevedo, E., Tovar, J., Ruales, J., y Bello-Pérez, L. A. (2007). Fibre concentrate from mango fruit: Characterization, associated antioxidant capacity and application as a bakery product ingredient. *LWT-Food Science and Technology*, 40(4), 722-729

Villalobos, C. E. V., Simental, S. S., y Delgado, L. H. V. (2010). Efecto de la fibra dietética sobre la textura de salchichas tipo Viena. *Nacameh*, 4(2), 37-43.

Villamizar, R. H., Quinceno, M. C., y Giraldo, G. A. (2011). Comparación de la fritura al vacío y atmosférica en la obtención de pasabocas de mango (*Manguifera indica* L.). *Temas Agrarios*, 16(1).

Yamazaki, K., Tsunoda, A. K. I. R. A., Sibusawa, M. I. K. I., Tsunoda, Y. U. K. O., Kusano, M., Fukuchi, K., y Morotomi, M. (2000). The effect of an oral administration of *Lactobacillus casei* strain shirota on azoxymethane-induced colonic aberrant crypt foci and colon cancer in the rat. *Oncology reports*, 7(5), 977-1059.

Young, R. y Huffman, S. (2003). Probiotic use in children. *Journal of pediatric health care*. 17: 277-283.

Yu, S. M., Kogan, M. D., y Huang, Z. J. (2002). Vitamin-mineral supplement use among US women, 2000. *Journal of the American Medical Women's Association* 58(3), 157-164

Zhao, Y., y Xie, J. (2004). Practical applications of vacuum impregnation in fruit and vegetable processing. *Trends in Food Science & Technology*, 15(9), 434-451

Zhao, F. J., y Shewry, P. R. (2011). Recent developments in modifying crops and agronomic practice to improve human health. *Food Policy*, 36, S94-S101.