

**ELABORACIÓN DE NÉCTAR DE MANGO CON ADICIÓN DE PROBIOTICO
Lactobacillus gasseri E INULINA COMO ALIMENTO FUNCIONAL, SIN ADITIVOS
QUÍMICOS Y COMO UNA ALTERNATIVA A LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS**

**MANGO NECTAR WITH THE ADDITION OF PROBIOTIC *Lactobacillus gasseri* AND
INULIN AS A FUNCTIONAL FOOD WITHOUT CHEMICAL ADDITIVES AND AS AN
ALTERNATIVE TO THE FOOD INDUSTRY**

Ivonne Catalina Fajardo-Argoti¹;
Henry Jurado-Gómez^{2*};
Veronica Alzate-Amariles³

Resumen

Los alimentos funcionales tienen un efecto beneficioso para la salud e involucran efectos fisiológicos, los cuales tienen incidencia en el balance en la microbiota intestinal. En este sentido investigar, estudiar y desarrollar bebidas de fruta, con adición de microorganismos probióticos pretende responder los desafíos tecnológicos que comprendan, así como también evaluar parámetros importantes como la viabilidad, calidad microbiológica y el efecto sensorial. Se propuso la adición de la cepa láctica *Lactobacillus gasseri* ATCC® 19992 a una matriz vegetal que consistió en un néctar a base de mango (*Mangifera indica*) para evaluar su viabilidad, calidad microbiológica y efecto sensorial en el tiempo. Se llevó a cabo la reconstitución y siembra de *L. gasseri*, mediante ajuste de inóculo, se centrifugó a 9000 r.p.m x 10 minutos a 4°C para obtener la biomasa. Se elaboró el néctar con pulpa de mango (0,17°Brix), con adición de ingrediente prebiótico (inulina), posteriormente se incorporó la biomasa de la cepa láctica en la matriz vegetal y se llevó a incubación (37°C x 24 h), posteriormente se almacenó en condiciones de refrigeración (4°C), después se evaluó la viabilidad, la calidad microbiológica y el efecto sensorial en el tiempo con mediciones a los 0, 5 y 11 días. Los resultados obtenidos mostraron que se presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) para las variables evaluadas (viabilidad UFC/mL, °Brix, acidez y pH) en este sentido factores como el tiempo y temperatura y almacenamiento influyeron sobre los parámetros evaluados, a su vez se observó que la inclusión de la cepa en el néctar tuvo efecto en los aspectos olor y sabor, por lo que se llevó a cabo un ensayo adicional para enmascararlos con la hierba aromática hierbabuena (*Mentha spicata*). Incorporar probióticos en matrices vegetales representa una estrategia importante en la industria alimentaria por su impacto en la salud del consumidor.

Palabras clave: Néctar, *Lactobacillus gasseri*, inulina, salud, viabilidad.

¹ Zoot, M.Sc, Investigador grupo de investigación PROBIOTEC-FORAPIS, Universidad de Nariño, ORCID: 0000-0003-1993-6573, e-mail: ifajardo@unal.edu.co,

² Zoot, Esp, M.Sc, Ph.D. Director grupo de Investigación PROBIOTEC-FORAPIS, Profesor Titular de Tiempo Completo, Facultad de Ciencias Pecuarias, Programa de Zootecnia, Universidad de Nariño, ORCID: 0000-0003-2118-7997, e-mail: henryjugam@gmail.com

³ Zoot, Esp, M. Sc. Investigador grupo de investigación en ciencia y tecnología de alimentos, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, ORCID: 0000-0002-6332-0154, e-mail: valzatea@unal.edu.co

*Autor de correspondencia: henryjugam@gmail.com

Abstract

Functional foods have a beneficial effect on health and involve physiological effects, which have an impact on the balance in the intestinal microbiota. In this sense, researching, studying and developing fruit drinks with the addition of probiotic microorganisms aims to meet the technological challenges involved, as well as to evaluate important parameters such as viability, microbiological quality and sensory effect. The addition of the lactic strain *Lactobacillus gasseri* ATCC® 19992 to a vegetable matrix consisting of mango (*Mangifera indica*) nectar was proposed to evaluate its viability, microbiological quality and sensory effect over time. Reconstitution and seeding of *L. gasseri* was carried out by adjusting the inoculum, centrifuged at 9000 r.p.m x 10 minutes at 4°C to obtain the biomass. The nectar was made with mango pulp (0.17°Brix), with the addition of a prebiotic ingredient (inulin), then the biomass of the lactic strain was incorporated into the vegetable matrix and incubated (37°C x 24 h), then stored under refrigerated conditions (4°C), after which the viability, microbiological quality and sensory effect were evaluated over time with measurements at 0, 5 and 11 days. The results obtained showed that there were significant differences ($p < 0.05$) for the variables evaluated (viability UFC/mL, °Brix, acidity and pH) in this sense, factors such as time, temperature and storage influenced the parameters evaluated. It was also observed that the inclusion of the strain in the nectar had an effect on the odor and flavor aspects, so an additional test was carried out to mask them with the aromatic herb peppermint (*Mentha spicata*). Incorporating probiotics in vegetable matrices represents an important strategy in the food industry because of its impact on consumer health.

Key words: Nectar, *Lactobacillus gasseri*, inulin, health, viability.

Introducción

Los alimentos funcionales son aquellos que, además de aportar nutrientes, proporcionan un mejor estado de salud y bienestar. El desarrollo de este tipo de alimentos es una oportunidad de contribuir a mejorar la calidad de la dieta (Olagnero et al., 2007). Por su parte Bernal-Castro et al. (2017) mencionan que el mercado de alimentos funcionales está en continuo crecimiento al igual que los productos dirigidos a la salud gastrointestinal, en particular los probióticos y prebióticos son ampliamente estudiados. Los prebióticos (oligosacáridos y polisacáridos), componentes bioactivos que generan sinergia con los microorganismos probióticos ofreciendo un beneficio a la salud del huésped (Annunziata & Vecchio, 2013).

En este orden de ideas las frutas son matrices alimenticias con contenido de micronutrientes, antioxidantes y fibra con un potencial para el desarrollo de alimentos funcionales (FAO, 2016). Colombia es un país productor de frutas tropicales y las pérdidas postcosecha son altas (55% de la producción local para frutas y verduras), por lo tanto, es imprescindible generar estrategias tecnológicas que permitan el desarrollo de nuevos productos aprovechando los recursos de la biodiversidad. La inclusión de microorganismos probióticos en matrices vegetales es un desafío para la industria hortofrutícola. Existen diversos factores (composición fisicoquímica, bioactiva y sensorial) que limitan la viabilidad del microorganismo y la estabilidad del producto en almacenamiento. Aun así, estas matrices han demostrado ser excelentes sustratos para la síntesis celular y la producción de ácido láctico (Hill et al., 2014).

Los mismos autores mencionan que los probióticos han sido definidos como: microorganismos vivos que confieren un beneficio a la salud del huésped en cantidades adecuadas. El término probiótico (del griego “para la vida”) incluye una amplia gama de microorganismos, principalmente bacterias y levaduras, sin embargo, el efecto en la salud humana es específico de la cepas (Rai & Bai, 2015). El concepto de “probiótico” en los últimos años desde la divulgación de la Guía de Probióticos y Prebióticos publicada por la Organización Mundial de la Salud y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) ha sido malinterpretado, empleando el término en productos con insuficiente base científica (Hill et al., 2014). Las especies de géneros como *Lactobacillus* son usadas frecuentemente como probióticos (OMS, 2011; Chen & Sears, 2014). Estas se caracterizan por que tienen funciones como agentes para la fermentación de alimentos, herramienta tecnológica en la conservación de productos y pueden generar efectos fisiológicos benéficos al huésped mediante la capacidad probiótica (Annunziata & Vecchio, 2013). *Lactobacillus gasseri* ha sido catalogado como uno de los principales *Lactobacillus* homofermentativos del intestino humano. Por su parte Wall et al. (2007), mencionan que en una etapa temprana de la vida *L. gasseri* se establece en el tracto gastrointestinal (TGI) humano, y prevalece durante la edad adulta. Al respecto, Matsumiya et al. (2002), Martín et al. (2003), Dal Bello y Hertel (2006) y Lamont et al. (2011) afirman que puede ser transferido en parte al TGI de los recién nacidos a través de la cavidad oral, o del tracto vaginal y/o de la areola mamaria de sus madres durante el parto y la lactancia. Por su parte, los prebióticos son componentes de los propios alimentos que no son absorbidos en el intestino delgado, pero que, al llegar al colon, favorecen el crecimiento y la actividad en sí de las bacterias beneficiosas para el organismo. La Inulina es un fructano polidisperso que consiste en una mezcla de oligómeros y polímeros mayores formados por uniones β -(2-1) fructosilfructosa. El grado de polimerización (GP) proveniente de la achicoria oscila entre 3 y 60, con un valor promedio de aproximadamente 10 (Olagnier et al., 2007).

En la industria de alimentos la inclusión de cultivos probióticos se ha realizado tradicionalmente en productos lácteos (queso, yogur, helados, entre otros) (Shori A, 2016; Martins et al., 2013). La investigación en el desarrollo de soluciones alternativas a los productos probióticos derivados de la leche es una opción en crecimiento dentro de la industria de alimentos, especialmente el diseño de bebidas de frutas y/o vegetales como ingrediente principal es una iniciativa factible (Vijaya et al., 2015). Los avances tecnológicos han permitido alterar algunas características estructurales de las matrices vegetales modificando los componentes de estos alimentos de una forma controlada (Lewandowski C, 2015), y generando una serie de productos con valor agregado en el mercado de alimentos. Con el fin de proporcionar los efectos funcionales, las cepas a menudo requieren una matriz específica que permita la supervivencia óptima del cultivo a lo largo del TGI (Vandenplas, Huys & Daube, 2015).

Por lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue elaborar un bebida funcional a base de néctar de mango con adición de *L. gasseri* e inulina.

Metodología

Localización. El ensayo se desarrolló en el laboratorio de frutas y hortalizas, en el laboratorio de microbiología de la Universidad Nacional de Colombia-sede Medellín y en el laboratorio de Investigación PROBIOTEC-FORAPIS de la Universidad de Nariño.

Ivonne Catalina Fajardo-Argoti, Henry Jurado-Gámez,

Verónica Alzate-Amariles

Reconstitución, conservación, siembra y cultivo de *Lactobacillus gasseri*. La cepa láctica de colección *Lactobacillus gasseri* ATCC® 19992, se adquirió a través de laboratorios Annar Diagnostica Import S.A.S. La reconstitución se realizó de acuerdo a las instrucciones del fabricante y en caldo MRS y agar MRS (Man, Rogosa y Sharpe) con el fin de optimizar su crecimiento y recuperación de acuerdo a la metodología adaptada por Jurado-Gómez et al. (2015). Siguiendo la metodología propuesta por Jurado-Gómez et al. (2010) trascurridas 24 horas de reconstituida la cepa láctica, se confirmó el crecimiento y desarrollo de esta y se continuó a realizar el repique en cajas de agar MRS comercial y en tubos con caldo MRS, posteriormente se incubaron por 24 horas a 37°C. Este procedimiento se realizó en cámara de flujo laminar tipo II. Al día siguiente, se revisó nuevamente su crecimiento en los agares y caldos y para constatar su morfología macroscópica como microscópicamente mediante coloración de Gram se confirmó su pureza.

Para el cultivo del inóculo se realizó el siguiente procedimiento, se inoculó una asada del cultivo de la cepa láctica, en un erlenmeyer con 40 mL de caldo MRS estéril. Se llevó a incubación por 24 horas a 37°C. Nuevamente se realizó un repique de 4 mL de está caldo a otros 40 mL de caldo MRS comercial y se incubó en las condiciones antes mencionadas. Según Crueger y Crueger (1993), el porcentaje de inóculo se ajustó al 10% v/v, para iniciar la fermentación. Después de este tiempo se calculó el número de bacterias por mL. Del caldo MRS comercial con el inóculo se tomó 1 mL y se vertió en 9 mL de solución peptonada. Cuando se presentó mayor población de la establecida, se adicionó caldo estéril, teniendo en cuenta el siguiente cálculo matemático de proporcionalidad de acuerdo a Guerrero et al. (2002) y Montes et al. (2003).

M_1 = población o densidad celular que se debe ajustar

M_2 = 0,125 densidad óptica equivalente a $1,50 \times 10^8$ bact/mL. Densidad utilizada primera fermentación.

V_1 = 1 mL volumen proveniente del inóculo total (10/90)

X_1 = cantidad que contiene M_2

V_2 = lo que se agrega a 1 mL para ajustar a $1,50 \times 10^8$ bact/mL

V_3 = 100 mL cantidad total del inóculo

X_2 = cantidad de caldo MRS comercial estéril que se agrega a V_3 para ajustar la población el valor de M_2

Se encuentra entonces X_1 ;

$$M_1 \rightarrow M_2$$

$$M_2 \rightarrow M_1$$

Se encuentra entonces V_2 ;

$$V_2 = V_1 - X_1$$

Finalmente se obtiene el valor de X_2 ;

$$V_1 \rightarrow V_2$$

$$V_3 \rightarrow V_2$$

El valor de X_2 , es la cantidad que se debe agregar para ajustar la población.

Obtención de biomasa. De acuerdo a la metodología propuesta por Serna-Jiménez (2012), el cultivo obtenido después de la activación, se centrifugó en una centrifuga refrigerada a 9000 r.p.m, a 4°C durante 10 minutos para concentrar las células. Con jeringa estéril se extrajo el sobrenadante y el pellet obtenido se inoculó en 5,0 mL del néctar de mango de previamente preparado y se llevó a incubación en anaerobiosis durante 24 horas. Mediante recuento en placa se verificó la concentración bacteriana en los néctares en los tiempos establecidos, que en todos los casos estuvo 3,8 y $2,8 \times 10^7$ UFC/mL.

Elaboración de néctar de mango. Una vez ajustada la concentración bacteriana en la escala de Mcfarland de 1.0 (1200×10^6 /mL), se llevó a cabo la elaboración del néctar de mango para esto, se trabajó con pulpa de mango tomy (*Mangifera indica* 'Tommy Atkins') con una concentración de solidos solubles totales de 18° Brix y porcentaje de adición de 40,4 %. La formulación se presenta en la tabla 1. El flujograma en donde se detalla paso a paso de la elaboración se puede observar en la figura 1.

Tabla 1. Formulación néctar de mango.

Materia prima	Cantidad (%)
Pulpa de mango	40,45
Azúcar	3,47
Agua	53,82
Inulina (2.5% por porción)	2,25
Total	100

Figura 1. Flujograma néctar de mango.



Evaluación de la viabilidad del néctar de la BAL. De acuerdo a la metodología de Serna-Jimenez (2012), el néctar inoculado se almacenó durante 11 días a 4°C y se le realizó un seguimiento a través del tiempo para evaluar la viabilidad de la BAL. Como control se utilizó néctar de mango sin adición de la cepa láctica. La evaluación de la viabilidad del néctar se realizó tomando muestras a los 0, 5 y 11 días y mediante recuento en placa sobre agar MRS se determinó su concentración a lo largo del ensayo. Las placas se incubaron a 37°C en anaerobiosis durante 24 horas y con las colonias resultantes se construyó la gráfica de viabilidad.

Evaluación calidad microbiológica del néctar. Para esta determinación se evaluó la presencia de dos patógenos asociados a contaminación alimentaria, como *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*, para lo anterior y de manera respectiva, se empleó la prueba 3M Placas PetrifilmMR Staph Express®99, la cual consistió en un medio de cultivo listo para ser empleado, que contiene un agente gelificante soluble en agua fría, sobre estas placas se depositó una alícuota de 1 mL de los néctares trabajados y se llevó a incubación durante 24 h, transcurrido este tiempo se determinó su presencia o ausencia, siendo las colonias rojo-violeta en la placa positivas para *S. aureus*. Por su parte, para *L. monocytogenes* se llevó a cabo su determinación con las tirillas Rapidcheck Listeria®, para lo anterior se midió 25 mL de muestra en una bolsa para stomacher posteriormente, se adicionó 225 mL de medio de enriquecimiento precalentado a 30°C, luego se agitó en stomacher por 30 segundos, se llevó a incubación por 40 horas a 30°C y se realizó el montaje en la tirilla. Para el montaje de la prueba, se transfirió del medio incubado 400 µL a un tubo plástico rack o vial, y se lo identificó luego se colocó el tubo en un baño maría a 100°C por 5 minutos, se removió los tubos y se dejó enfriar a temperatura ambiente, posteriormente, se depositó a cada tubo una tirilla con la flecha indicando hacia abajo, se dejó actuar la tirilla por 10 minutos. La aparición de una línea roja (control) indica un resultado negativo y la aparición de dos líneas rojas indica un resultado positivo.

Caracterización fisicoquímica del néctar. Las propiedades fisicoquímicas del néctar adicionado con la BAL y las del néctar control se evaluaron a partir de muestras recolectadas cada 5 días. Para cada néctar se determinó el porcentaje de acidez, pH y sólidos solubles totales (°Brix) a través del tiempo, adicionalmente se realizó un análisis sensorial para establecer cambios organolépticos en los néctares. A continuación, se describe el procedimiento que se llevó a cabo para cada prueba:

- **Sólidos solubles (°Brix):** Se realizó una lectura refracto métrica (Método AOAC 932.12/90, adaptado por (Bernal, 1993).
- **Acidez por medio del método de titulación potenciométrica:** Método AOAC 942.05/90 adaptado por (Bernal, 1993).
- **pH:** potenciómetro METER, cg-840b (Schott), Método AOAC 981.12/90 adaptado por (Bernal, 1993).
- **Evaluación sensorial:** La evaluación sensorial se realizó utilizando una escala hedónica con consumidores potenciales. Los participantes tomaron 30 mL de néctar en una copa de 50 mL identificada con un código alfa-numérico de dos caracteres (M1 -Control y M2- Probiótico) y en un formato evaluaron el olor, color, sabor y textura. En el Anexo 1 se presenta el formato utilizado para la evaluación sensorial.

Información nutricional. Se elaboró con la ayuda de profesional nutricionista dietista la tabla de información nutricional del néctar teniendo en cuenta la resolución 333 de 2011 (MPS, 2011).

Etiqueta y rotulado del néctar. Para el envasado y el rotulado de los néctares de mango se tomó como referencia la NTC 512-1.

Análisis estadístico. Para establecer el efecto de la cepa láctica sobre el néctar de mango se realizó un análisis de medidas repetidas en el tiempo, utilizando el paquete estadístico SPSS Statistics 20.0 teniendo en cuenta un nivel de significancia del 5% ($p < 0,05$). Se establecieron las diferencias mediante la prueba de Tukey.

$$Y_{ijk} = \mu + a_i + \tau_k + (\alpha\tau)_{ik} + e_{ijk}$$

Y_{ijk} = Valor de la respuesta medida para el tiempo k en el sujeto j asignado al tratamiento i .
 μ = Media general.

$a_i + \tau_k + (\alpha\tau)_{ik}$ = Media para el tratamiento i en el tiempo k , asociado con los efectos fijos tratamiento (a_i), tiempo (τ_k) y la interacción tratamiento por tiempo ($\alpha\tau)_{ik}$.

e_{ijk} = Error aleatorio asociado al sujeto j asignado en el tratamiento i para el tiempo k .

Resultados y discusión

Ensayos de viabilidad de la BAL en el néctar. Durante los 11 días de almacenamiento, las concentraciones celulares de la bacteria se mantuvieron por encima de 7,0 Log UFC/mL (figura 2), lo que sugiere la buena capacidad de la cepa para sobrevivir a los factores intrínsecos y extrínsecos asociados a este tipo de productos. Los resultados obtenidos muestran una alta tolerancia de la cepa en estudio a las condiciones fisicoquímicas del néctar

estandarizado y a la temperatura de refrigeración evaluada. Luego de haber inoculado el néctar con concentraciones celulares aproximadas de 10^9 UFC/mL, se observó que después de 11 días de almacenamiento, la cepa solo disminuyó su concentración celular en dos ciclos logarítmicos, obteniendo poblaciones finales cercanas a 10^7 UFC/mL, así pues, las lecturas en placa reportaron valores de 3×10^8 , $3,2 \times 10^7$ y $2,8 \times 10^7$ UFC/mL de manera respectiva para los 3 tiempos (figura 3). Se ha reportado, que microorganismos obtenidos de procesos fermentativos como el de este caso, han presentado alta tolerancia a condiciones de acidez, pH ácido y stress celular, por lo que se convierten en una buena opción para el desarrollo de bebidas y alimentos funcionales (Yoon et al., 2006). Igualmente, el uso de frutas y vegetales como matrices y medios de crecimiento, confiere beneficios al microorganismo probiótico por los diferentes componentes que contienen, ya que sustancias como los antioxidantes, la fibra y las vitaminas, podrían llegar a tener efecto protector para el microorganismo (Pereira et al., 2011).

La viabilidad y supervivencia de este tipo de microorganismos ácido lácticos en matrices no lácteas, ha sido reportada también por otros autores tales como, Moussavi y Adams, (2010) los cuales reportaron un alto nivel de resistencia de especies de *L. plantarum* a condiciones de acidez, pH ácido y almacenamiento a 4°C en jugos de fruta. Champagne y Gardner (2008) reportaron una concentración final de una cepa BAL de 10^7 UFC/mL luego de 80 días de almacenamiento a 4°C en una bebida a base de frutas. Por su parte Yoon et al., (2006) encontraron al cabo de cuatro semanas de almacenamiento en refrigeración a 8°C , una concentración celular de 10^7 UFC/mL de microorganismo probiótico en jugo de col. Nualkaekul y Charalampopoulos (2011) reportaron poblaciones de 10^7 - 10^8 UFC/mL en una cepa BAL almacenada durante seis semanas a 8°C en jugos de naranja, uva, grosella y piña.

Otro de los puntos importantes en el momento de la selección y evaluación de la actividad probiótica de cepas, es la dosis efectiva, para que puedan darse de manera adecuada los procesos de colonización en el organismo. Al respecto Aureli et al. (2011) reportaron que según la AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments), la dosis del probiótico a ingerir es un factor importante para obtener altas concentraciones microbianas en varios compartimientos del tracto gastrointestinal. En ese mismo estudio se planteó también, que en el intestino delgado debe haber al menos 10^6 UFC/mL de las bacterias ingeridas y en el colon aproximadamente 10^8 UFC/mL. Por esta razón es fundamental garantizar la viabilidad de las cepas durante todos los ensayos y el hecho de que *L. gasseri* se haya mantenido en altas poblaciones celulares en la matriz alimentaria evaluada, sugiere que esta cepa podría ser aplicada para el desarrollo de bebidas de fruta funcionales, por su nivel de viabilidad y por su resistencia a condiciones adversas.

El crecimiento positivo de bacterias ácido lácticas en estos tipos de alimentos muestra que es factible utilizar las matrices vegetales como sustrato para los probióticos, obteniendo todos los beneficios del proceso de fermentación, es por tanto que frutas y vegetales representan alimentos que promueven la salud gracias a la combinación de probióticos y prebióticos naturalmente presentes en sus estructuras (Rai & Bai, 2015). La primera bebida de fruta sin leche con adición de probióticos fue Proviva[®] lanzada en Suecia en 1994 por la compañía Skane Lácteos (Molin G, 2001). El componente activo de este producto se compone de bacterias ácido lácticas (*L. plantarum* 299v) crecidas en harina de avena. El producto final

contuvo concentraciones entre 5×10^7 y 1×10^{11} UFC/mL. Otros ejemplos de productos disponibles en el mercado son: Rela[®] (Biogai, Suecia), un jugo de fruta con *L. reuteri* MM53; Geflius[®] (Valio Ltd., Finlandia) bebida de fruta con 7 semanas de vida útil en refrigeración; Bioprofit[®] (Valio Ltd.) con *L. rhamnosus* y *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* JS y Biola[®] (Tiene BA, Noruega) una bebida con más del 95% de fruta sin adición de azúcar (Corbo et al., 2014). Varias frutas y verduras como manzanas, naranjas, grosella negra, plátano, arándano, piña, melón, frambuesa, granada, zanahoria, remolacha. han sido utilizadas para el diseño de diferentes productos enriquecidos con probióticos (Martins et al., 2013).

El efecto fisiológico de los prebióticos parece estar relacionado con un aumento de la viscosidad del contenido del tracto gastrointestinal, reduciendo la tasa de vaciamiento gástrico y aumentando la absorción de nutrientes. Los prebióticos tienen actividades biológicas adicionales, a la influencia en la microbiota intestinal, específicamente, se ha sugerido que algunos prebióticos, como los galactooligosacáridos (GOS) pueden ser capaces de inhibir las infecciones gastrointestinales a través de actividades anti-adhesivas la inclusión de prebióticos en matrices vegetales, los cuales pueden cumplir múltiples funciones más allá de la prebiótica, mejorando las características sensoriales y fisicoquímicas de las bebidas, como agentes edulcorantes para bebidas de fruta, como estabilizadores para evitar procesos de licuefacción y como componentes sinérgicos y protectores en las diferentes técnicas de encapsulación de microorganismos con capacidad probiótica, con el fin de favorecer las condiciones ambientales y de adaptabilidad a estas bacterias en diferentes clases de matrices (Luckow et al., 2004; Luckow et al., 2005).

La cepa láctica propuesta para el ensayo ha sido estudiada y distribuida principalmente en suplementos dietéticos en la industria alimentaria, sin embargo, no ha sido tan ampliamente evaluada en otras matrices alimentarias, no obstante en los últimos años se ha evaluado su adición en algunas matrices lácteas para prevenir enfermedades tal como Yox[®] de Alpina S.A y en otros estudios reportados por Arakawa et al. (2010) y Nakamura et al. (2013) donde encontraron que la gasserin A que contiene el sobrenadante del cultivo de *L. gasseri* y su concentrado se han utilizado eficazmente como bioconservante en la fabricación de crema pastelera. La cepa *L. gasseri* exhibe múltiples propiedades que la clasifican como un microorganismo con potencial probiótico que puede llegar a ser beneficioso de manera importante en la salud del consumidor, en el néctar de mango, demostró su capacidad de establecimiento y supervivencia, así como también de otorgar al producto estabilidad, ya que al no tener conservantes permitió al producto mantener sus características deseables en el tiempo. Sumado a esto contenía el néctar los sustratos suficientes para su supervivencia, al aportar el mango fibra y carbohidratos y con un pH y acidez deseables, a su vez la adición de inulina además de conferirle estabilidad al producto garantizó sustrato adicional para el microorganismo.

Figura 2. Viabilidad de la BAL (Log UFC/mL) en el tiempo

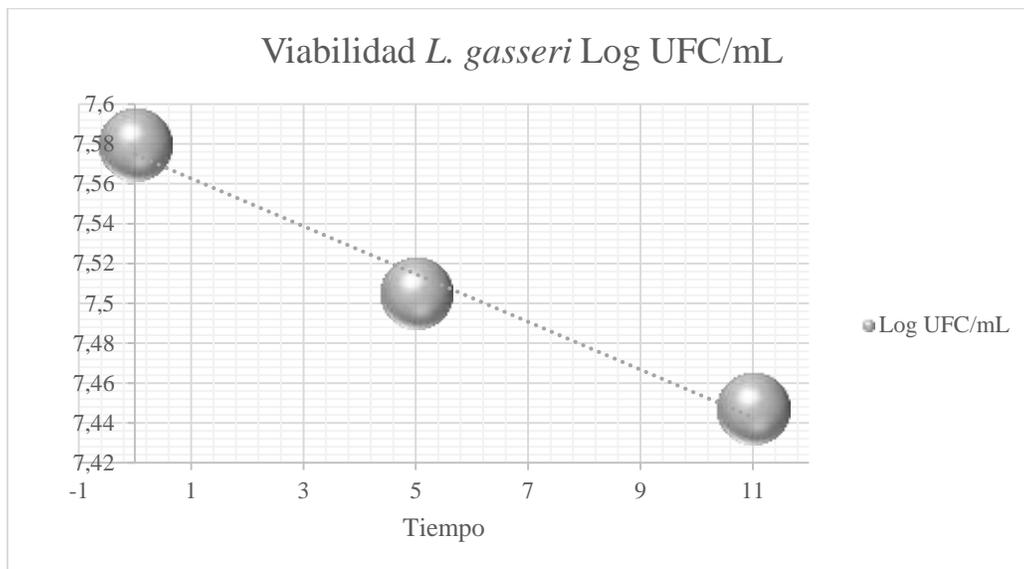


Figura 3. Crecimiento en placa de *L. gasseri* en el tiempo





Evaluación calidad microbiológica del néctar. Con los resultados obtenidos en los rapid test se pudo establecer la ausencia de los microorganismos patógenos *S. aureus* y *L. monocytogenes* en los néctares trabajados. Lo anterior corresponde a un resultado deseable en la industria alimentaria, lo anterior, primero debido a las buenas practicas de manufactura, buenas practicas de laboratorio y bioseguridad, y segundo, a la acción de bacteria ácido láctica en el néctar y a la producción de sustancias antimicrobianas propios de su proceso de fermentación. Al respecto autores como Olea et al. (2012) señalan que la alimentación es una necesidad imperante de los seres humanos. Sin embargo, los alimentos pueden albergar diferentes peligros para la salud al contaminarse por agentes físicos, químicos y biológicos durante sus diferentes etapas de producción, almacenamiento, transporte y elaboración previos a su consumo, generando enfermedades que son consideradas como un serio problema y un reto para la salud pública alrededor del mundo debido a las elevadas tasas de incidencia, mortalidad y repercusiones económicas negativas del sector productivo y de salud por el desarrollo y acciones de implementación de estrategias de control, vigilancia y prevención en materia de salud pública, animal e industria alimentaria. Así pues, en la producción de alimentos nutritivos e inocuos, se han utilizado nuevas tecnologías, buenas prácticas agrícolas, buenas prácticas pecuarias, buenas prácticas de manufactura, control de calidad y medidas de higiene y seguridad, así como sistemas preventivos como la ejecución del análisis de peligros y puntos críticos de control (HACCP, por sus siglas en inglés) (Jorquera D, Galarce N y Borie C. 2015). En este sentido, la inocuidad es un concepto atribuido a todo alimento que no ocasiona daño ni enfermedad a la persona que lo consume y que junto con las características nutricionales, organolépticas y comerciales constituye la calidad integral del mismo y debe ser el factor común y prioritario a lo largo de la cadena productiva.

Propiedades fisicoquímicas del néctar. A partir de los análisis fisicoquímicos del néctar con BAL y almacenados a 4°C durante 11 días, se pudo establecer el efecto del microorganismo sobre cada una de las variables medidas, que para este caso fueron: acidez, pH y °Brix, así como también fue posible establecer el efecto del tiempo sobre estas variables en el control.

Tabla 2a. Análisis estadístico propiedades fisicoquímicas del néctar (°Brix y pH).

Ivonne Catalina Fajardo-Argoti, Henry Jurado-Gámez,
Verónica Alzate-Amariles

CONOCIMIENTO GLOBAL
2021; 6(S2):1-23

TRAT (°Brix)		Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Sig
				Lower Bound	Upper Bound	
M2	T0	12,017	,316	11,371	12,663	b
	T11	10,333	,316	9,687	10,979	c
	T5	10,467	,316	9,821	11,113	c
M1	T0	12,067	,316	11,421	12,713	b
	T11	9,762	,316	9,116	10,408	c
	T5	13,200	,316	12,554	13,846	a
TRAT (pH)		Mean	Std. Error	95% Confidence Interval		Sig
				Lower Bound	Upper Bound	
M2	T0	3,548	,011	3,525	3,572	a
	T11	2,943	,011	2,920	2,967	b
	T5	3,207	,011	3,183	3,230	b
M1	T0	3,508	,011	3,485	3,532	a
	T11	3,792	,011	3,768	3,815	a
	T5	3,590	,011	3,567	3,613	a

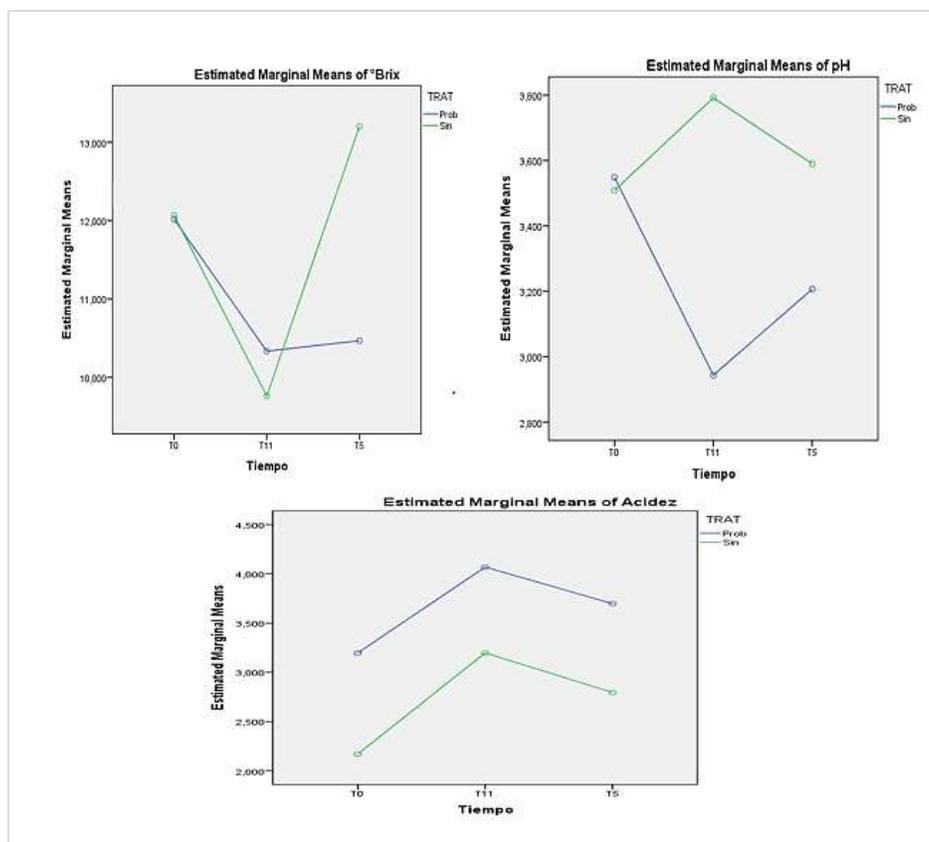
*M1: Néctar control, M2: Néctar con probiótico. Letras diferentes en la misma fila indican diferencia estadística significativa ($p < 0,05$).

Tabla 2b. Análisis estadístico propiedades fisicoquímicas del néctar (acidez).

Tiempo	N	Subset		
		c	b	a
T0	12	2,68333		
T5	12		3,24583	
T11	12			3,63250

*Letras diferentes en la misma fila indican diferencia estadística significativa ($p < 0,05$).

Figura 4. Graficas análisis estadístico.



En las tablas 2a y 2b y en la figura 4, se presenta el análisis estadístico para los parámetros fisicoquímicos °Brix y pH y acidez respectivamente para los néctares. Para el parámetro °Brix de M2 se observó que presentó diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) entre el T0 con respecto a los T5 y T11. Por su parte M1 presentó diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) en todos los tiempos evaluados. Para el parámetro pH, M2 se observó que presentó diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) entre el T0 con respecto a los T5 y T11, sin embargo, para M1 no presentó diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$). Finalmente, para el parámetro acidez, se observó que presentó diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) entre todos los tiempos para M1 y M2.

En este orden de ideas, a nivel de acidez, se observó que el valor de esta variable aumentó significativamente ($p < 0,05$) a través del tiempo en el néctar evaluado, similar a lo reportado por Serna-Jiménez (2012) donde evaluó esta característica en jugo de mango (*Mangifera indica*), en donde respecto a otros jugos el de mango fue el que presentó un mayor incremento de esta variable a lo largo del almacenamiento en el control y en el jugo con una cepa BAL. Adicionalmente, en el presente ensayo fue evidente que el néctar inoculado con la BAL presentó valores de acidez significativamente mayores que el control, debido posiblemente, a la actividad metabólica de la bacteria y, por ende, a la producción de ácido láctico y otros metabolitos. *L. gasserii* es homofermentativa por lo que el 80% de sus productos de fermentación es ácido láctico, por su parte autores como Van Winsen et al. citado por García et al. (2008) señalan que en los productos derivados de la fermentación se encuentran altas

concentraciones de ácido láctico y otros ácidos orgánicos, que son los productos finales del proceso catabólico desarrollado por microorganismos como los *Lactobacillus*.

Con respecto a los valores de pH, Gauthier (2002) manifiesta que una alta concentración de estos metabolitos disminuye el pH del medio lo que, en ocasiones, puede provocar la muerte de los microorganismos debido a su incapacidad de soportar más crecimiento. Con base en lo anterior, es posible inferir que el descenso en el pH para *L. gasseri* en el néctar paso de 3,5 a 2,9 debido a la acumulación de ácido láctico y otros ácidos orgánicos que hicieron que el pH del néctar bajara y debido a la acumulación de metabolitos no proporcionara los nutrientes necesarios para favorecer el crecimiento de los microorganismos. Por su parte Santrosh (2006) señala que las BAL pueden sobrevivir y desarrollarse en presencia de pH relativamente bajo a diferencia de otros grupos microbianos pues poseen un sistema de transporte simultáneo de ácido láctico y de protones al exterior de la célula, originando energía. Según Jin et al. (1996); Garlich (1999); Arias (2000) y Chaveerach et al. (2002) la producción de ácidos orgánicos por determinados grupos de bacterias beneficiosas de la microbiota indígena favorece la reducción del pH intestinal. Los bajos valores de pH son considerados como el principal factor en la inhibición del desarrollo de enteropatógenos como *Salmonella* spp., *Escherichia coli* y *Campylobacter* sp.

Con respecto a la relación entre acidez y pH, según lo reportan en estudios Romero y Morillo (2016) existe una relación inversa entre la acidez y el pH, por cuanto el porcentaje de acidez marcó una tendencia creciente hasta llegar a 4.1%, en tanto el pH disminuyó hasta llegar a 2,9. En un estudio publicado por Nualkaekul y Charalampopoulos (2011), se generó un modelo matemático para predecir la dependencia de variables como pH, ácido cítrico y ascórbico sobre la población de una cepa BAL inoculada en jugos de piña, grosella, naranja, uva, limón, arándano y granada. Se encontró que a mayor concentración celular, se produjo mayor concentración de ácidos y que el pH de los jugos disminuyó significativamente con el paso del tiempo, como se encontró en los ensayos realizados en este proyecto. Así mismo, Yoon et al. (2006), realizaron una medición del ácido láctico producido durante la fermentación de jugos de col y encontraron un aumento significativo en la producción del ácido a lo largo del tiempo, resultado del metabolismo del microorganismo, y a su vez se relacionó con el aumento de la acidez y la disminución del pH en los jugos evaluados.

La evaluación en el tiempo de los grados Brix mostró un descenso significativo para esta variable en los néctares con unos valores iniciales y finales de 12 y 10,2 para el néctar con probiótico y unos valores iniciales y finales de 12 y 9,8 para el control. Posiblemente este efecto se deba al consumo de los azúcares presentes en los jugos por parte de los microorganismos o por los procesos degenerativos normales de este tipo de matrices (Serna-Jimenez, 2012). Los resultados obtenidos son comparables a los reportados por Shah et al. (2010), quienes también encontraron una disminución significativa de °Brix en jugos de fruta adicionados con *L. rhamnosus*, *L. paracasei* y *B. lactis*. En el estudio, los jugos que se almacenaron por seis semanas, también presentaron un aumento significativo en la acidez y un descenso marcado en el pH a través del tiempo.

Tomando como referencia la norma técnica colombiana 5468 de 2012, donde se establece los requisitos y los métodos de ensayo que deben cumplir los jugos (zumos), pulpas, néctares de frutas y sus concentrados, para consumo directo o elaboración ulterior, se observó que los

parámetros evaluados están dentro de los establecidos por la misma, en este sentido, la norma insta que la pulpa de mango debe contener un porcentaje mínimo de 12,5°Brix, para el néctar un porcentaje mínimo de 10°Brix, un pH mínimo de 2,5 y máximo de 4,6, un porcentaje de acidez mínimo de 0,2.

Evaluación sensorial de néctar de mango.

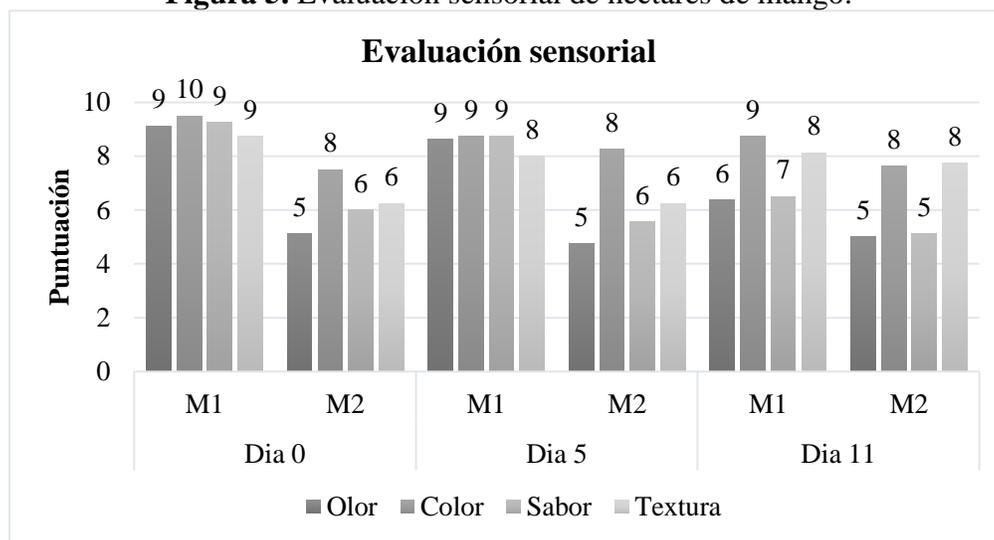
Los resultados de la evaluación sensorial se tabularon y graficaron para analizar el efecto de la adición de la BAL sobre los atributos evaluados (olor, sabor, color y textura) en el néctar, así como también en el néctar control (tabla 3, figura 5).

Tabla 3. Resultados evaluación sensorial de néctares de mango.

Atributo	Dia 0		Dia 5		Dia 11	
	M1	M2	M1	M2	M1	M2
Olor	9	5	9	5	6	5
Color	10	8	9	8	9	8
Sabor	9	6	9	6	7	5
Textura	9	6	8	6	8	8

*M1: Néctar control, M2: Néctar con probiótico.

Figura 5. Evaluación sensorial de néctares de mango.



*M1: Néctar control, M2: Néctar con probiótico.

En la tabla 3 y en la figura 5 se puede observar la calificación promedio para cada atributo evaluado, tanto para el tratamiento control como para el adicionado con probióticos, en los tres tiempos. Se le asignó un valor de 10 a la escala de clasificación mayor que correspondía a “Me gusta muchísimo”, y un valor de 1 para “Me disgusta muchísimo”. Así pues, se muestra que el olor y el sabor para el tratamiento M2 (néctar con probiótico) fueron los dos atributos que menor calificación obtuvieron en los tres tiempos, esto debido principalmente al efecto de las bacterias ácido lácticas sobre el néctar, atribuyendo un olor a “vinagre o

fermentado” y un sabor ácido, modificaciones esperadas por la acción de la BAL. Sin embargo, estos dos atributos pueden ser concebidos como tolerantes ya que quedaron clasificados dentro del rango de “Ni me gusta ni me disgusta. Se debe resaltar que en el tiempo 11 la calificación para el tratamiento control disminuyó significativamente, afectándose también el olor y el sabor, lo cual se puede deber al deterioro del producto, ya que al tener como objetivo evaluar la viabilidad del microorganismo en el tiempo, no se utilizaron conservantes que pudieran retardar dicho proceso.

De acuerdo a Serna-Jiménez (2012) en estudios realizados en jugos de fruta, el olor también fue uno de los atributos que se percibió más alterado. A nivel de los demás atributos (color, y textura) no se encontraron diferencias significativas entre los dos tratamientos, ni en el tiempo, clasificándose estas variables entre los rangos de “Me gusta moderadamente” y “Me gusta muchísimo”. En términos generales se podría indicar que el néctar con adición de probióticos podría ser viable, ya que quedo en una escala general de “Ni me gusta ni me disgusta”, aclarando que para mayor aceptabilidad del público se podrían investigar algunas alternativas para disipar los olores y sabores aportados por las BAL, como por ejemplo inclusión de algunas hierbas aromáticas entre otros.

Varios autores reportan y recomiendan el uso de frutas tropicales en la elaboración de jugos y/o néctares ya que, por sus aromas y sabores fuertes permiten que se enmascaren los sabores y olores característicos de los metabolitos producidos por las bacterias ácido lácticas usadas como probióticos. Al respecto Luckow et al. (2005) recomiendan el uso de jugos de frutas como piña, mango, maracuyá, como vehículos para probióticos, ya en encuestas a consumidores se logró establecer que dichas frutas atenuaron los cambios producidos por la fermentación bacteriana. Así mismo, Do Espírito-Santo et al. (2011) reportan la nueva tendencia en el consumo de bebidas a base de frutas exóticas y su potencial en la elaboración de alimentos funcionales, así como su efecto protector hacia los microorganismos benéficos. Finalmente, Pereira et al. (2011) también sugieren que el empleo de frutas y vegetales como matrices de probióticos amplían la oferta a los consumidores por nuevos y diferentes sabores.

Propuesta para mejorar olor y sabor del néctar de mango con probiótico.

Con el propósito de mejorar la puntuación recibida por los evaluadores en la encuesta sensorial para el néctar de mango con probiótico, se propuso ampliar su perfil como alimento funcional, enriqueciendo el néctar con hierbas aromáticas como la hierbabuena (*Mentha spicata*) en este sentido, Craker (2007) sostiene que las hierbas aromáticas y las especias son reconocidas por sus características conservantes, aromatizantes, medicinales y terapéuticas. La inclusión de estas hierbas permite mejorar el producto al cual se las adiciona, generando un producto funcional, debido a las propiedades diuréticas, antiasmáticas, antidepresivas, sedativas y bioactivas provenientes de las hierbas aromáticas y/o especias (American Mead Makers Association, 2012). Por lo tanto, se realizó un ajuste en la formulación (tabla 4) en donde se incorporó la infusión de la hierba aromática hierbabuena (*Mentha spicata*).

Tabla 4. Formulación néctar de mango.

Materia prima	Cantidad (%)
Pulpa de mango	40,45

Azúcar	3,47
Agua	51,19
Inulina (2.5% por porción)	2,25
Hierbabuena	2,63
Total	100

La incorporación de la infusión favoreció el mejoramiento del olor y sabor, enmascarando los sabores y olores característicos de los metabolitos producidos por las bacterias ácido lácticas usadas como probióticos. Esta adición demostró ser válida para la obtención de un producto sensorialmente aceptable y funcional con efectos benéficos en la salud del consumidor. Adicionalmente, y en este orden de ideas, es importante en el concepto de emprendimiento, el cálculo de los costos de producción, así pues, el costo de 300 mL de néctar de mango fue de \$ 5.466, y el costo de elaboración de un litro sería de \$ 17.500. Cabe señalar que los productos en el mercado en función al cuidado de la salud y mejora de la calidad de vida, presentan precios muy similares a los encontrados en el presente estudio, debido a la adición de ingredientes netamente en beneficio a la salud del consumidor, como es el caso de la cepa probiótica, pulpa de fruta, hierbabuena e inulina con su efecto prebiótico, sumado a lo anterior libre de conservantes y aditivos químicos, lo cual le genera su valor agregado en el mercado.

Información nutricional. De acuerdo a los cálculos realizados para estimar el aporte nutricional del producto se estableció que es alto en vitamina A, vitamina C y fibra dietaria (por encima del 20% del valor diario), además es libre de grasa y colesterol (<0,5g grasa <20mg colesterol) y bajo en sodio (<140 mg sodio) (Tabla 5). Lo que se traduce en un alimento potencialmente funcional, e influye positivamente en la salud del consumidor. Desde el punto de vista del valor nutritivo, el mango es una fuente importante de fibra y vitaminas. La pulpa del mango presenta una concentración significativa de compuestos bioactivos tales vitamina A (esencial para el mantenimiento de los tejidos epiteliales piel y mucosas), así como de compuestos con una gran actividad antioxidante entre ellos la vitamina C, vitamina E, polifenoles, carotenos, entre otros, además de presentar una importante concentración de minerales como potasio y magnesio, los cuales intervienen en la transmisión nerviosa y muscular, también aporta pequeñas cantidades de hierro, fósforo y calcio. Así mismo, la pulpa del mango contiene fibra soluble (pectinas), ácidos orgánicos (cítrico y málico) y taninos. En su composición destaca igualmente la presencia de una sustancia denominada manguiferina, que en animales de experimentación parece ejercer una acción antioxidante, inmunomoduladora, antiviral y antitumoral (Guha et al., 1996; Sánchez et al., 2000). De acuerdo a un estudio de Kuskoski et al. (2005) la pulpa de mango presentó una mayor actividad antioxidante y una mayor concentración de compuestos fenólicos totales comparada con la pulpa de uva, guayaba y piña. Por su parte Robles-Sánchez et al (2009) reportaron que el consumo de mango en personas redujo el estrés oxidativo y los niveles de triglicéridos en plasma.

Tabla 5. Información nutricional néctar de mango.

Información Nutricional			
Tamaño de la porción 1 (300 mL)			
Porciones por envase 1			
Cantidad por porción			
Calorías 300	Calorías de grasa 0		
	% Valor Diario*		
Grasa Total 0 g	0%		
Grasa Saturada 0 g	0%		
Grasa Trans 0 g			
Colesterol 0 mg	0%		
Sodio 5 mg	0%		
Carbohidrato Total 78 g	26%		
Fibra dietaria 10 g	38%		
Azúcares 34 g			
Proteína 1 g			
Vitamina A 60 %	Vitamina C 360 %		
Calcio 2 %	Hierro 6 %		
* Los porcentajes de Valores Diarios están basados en una dieta de 2000 calorías. Sus valores diarios pueden ser mayores o menores dependiendo de sus necesidades calóricas.			
	Calorías	2000	2500
Grasa Total	Menos de	65 g	80 g
Grasa Sat.	Menos de	20 g	25 g
Colesterol	Menos de	300 mg	300 mg
Sodio	Menos de	2400 mg	2400 mg
Carb. Total		300 g	375 g
Fibra dietaria		25 g	30 g
Calorías por gramo:			
Grasa 9	Carbohidratos 4	Proteína 4	

Etiqueta y rotulado del néctar. Para el envasado y el rotulado de los néctares de mango se tomó como referencia la NTC 512-1, en donde se describe algunas características del producto. Se presenta en la figura 6.

Figura 6. Etiqueta néctar de mango.



Conclusiones

La viabilidad de la bacteria durante los 11 días de evaluación indica la buena capacidad de la cepa de sobrevivir a los factores intrínsecos y extrínsecos asociados a este tipo de productos (características fisicoquímicas y temperatura de almacenamiento).

La inclusión de bacterias ácido lácticas del género *Lactobacillus* puede ser utilizada en matrices no lácteas como néctar de mango sin alterar sus características fisicoquímicas (°Brix, pH y acidez) durante los 11 días de evaluación.

La aceptabilidad general del néctar se situó en un rango de “Ni me gusta ni me disgusta”, sin embargo, para mitigar el efecto a nivel de olor y sabor que aportan las bacterias al néctar se recomienda implementar el uso de especies aromáticas como la hierba buena (*Mentha spicata*).

Referencias bibliográficas

- American Mead Makers Association. (2012). Mead styles. [Online]. <http://www.meadmakers.org/styles.htm>
- Annunziata, A., Vecchio, R. (2013). Consumer perception of functional foods: A conjoint analysis with probiotics. *Food Qual Prefer*; 28(1): 348-355.
- Arakawa, K., Kawai, Y., Ito, Y., Nakamura, K., Chujo, T., Nishimura, J., Kitazawa, H., Saito, T. (2010). HPLC purification and re-evaluation of chemical identity of two circular bacteriocins, gassericin A and reutericin 6. *Lett. Appl. Microbiol.* 50:406–411.
- Arias, F. (2000). Programas de exclusión competitiva, una realidad mundial contra enteropatógenos en avicultura. III Congreso Nacional de Avicultura. Centro de Convenciones Plaza América, Varadero, Matanzas, CUBA. pp. 22-26.
- Aureli, P., Capurso, L., Castellazzi, A. M., Clerici, M., Giovannini, M., Morelli, L., Poli, A., Pregliasco, F., Salvini, F. y Zuccotti, G.V. (2011). Probiotics and Health: An evidence-based review. *Pharmacological Research*, 1-11.
- Bernal de Ramírez, I. (1993). Análisis de alimentos. Bogotá: Guadalupe. p. 104-107. Tomado de: Bedoya, D. P. G., Velez, L. M. A., & Cardozo, C. J. M. 2004. Osmodeshidratación de mora de castilla (*rubus glaucus* benth) con tres agentes edulcorantes. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 57(1), 2253-2268.
- Bernal Castro, C. A., Díaz-Moreno, C., y Gutiérrez-Cortés, C. (2017). Probióticos y prebióticos en matrices de origen vegetal: Avances en el desarrollo de bebidas de frutas. *Revista chilena de nutrición*, 44(4), 383-392.
- Champagne, C. P. y Gardner, N.J. (2008). Effect of storage in a fruit drink on subsequent survival of probiotic lactobacilli to gastro-intestinal stresses. *Food Research International*, 539-543.

- Chaveerach, P., Keuzenkamp, D. A., Urlings, H. A., Lipman, I. J., Van Knapen, F. (2002). In vitro study on the effect organic acids on *Campylobacter jejuni/coli* populations in mixtures of water and feed. *Poultry Science* 81, 621- 628.
- Chen, L.A y Sears, C.L. (2014). Prebiotics, Probiotics, and Synbiotics. Eighth Edi. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, p 19-25.
- Corbo, M.R., Bevilacqua, A., Petruzzi, L., Casanova, F.P., Sinigaglia, M. (2014). Functional Beverages: The Emerging Side of Functional Foods. *Compr Rev Food Sci Food Saf*; 13(6):1192-1206.
- Craker, L. E. (2007). Medicinal and aromatic plants —Future opportunities, in *Issues in new crops and new uses*, J. Janick and A. Whipkey, Eds. Alexandria, VA: ASHS Press, pp. 248– 257.
- Crueger, W. y Crueger, A. (1993). *Biotecnología: Manual de Microbiología Industrial*. 3 ed. Madrid. España: Ed. Acribia, P.118. Isbn: 8420007439, 9788420007434.
- Dal Bello, F. y Hertel, C. (2006). Oral cavity as natural reservoir for intestinal lactobacilli. *Syst Appl Microbiol* 29, 69–76.
- Do Espírito-Santo, A. P., Perego, P., Converti, A., y Oliveira, M. N. (2011). Influence of food matrices in probiotic.
- Food and Agricultural Organization (FAO). (2016). Food losses and waste in Latin America and the Caribbean. *Boletín* 3. Febrero. p. 23. Edit.: Miguel Herrera.
- Garlich, J. D. (1999). Microbiología del tracto intestinal aviar. Conferencia presentada en el XVI Congreso Latinoamericano de Avicultura. Lima, Perú. Sep. 24.
- Gauthier, R. (2002). La Salud intestinal: clave de la productividad (El caso de los ácidos orgánicos). Segundo Precongreso Científico Avícola IASA. XXVII Convención ANECAWPDC. Puerto Vallarta. Jalisco, México.
- Guerrero, M., Guzmán, S., Yandar, N., Pazos, A. (2002). Efecto inhibitorio de *Lactobacillus acidophilus* sobre el enteropatógeno *Vibrio cholerae* 01 ogawa, in vitro. *Universidad Y Salud*, 1(3). <http://revistas.udenar.edu.co/index.php/usalud/article/view/314>
- Guha, S., Ghosal, S., Chattopadhyay, U. (1996). Antitumor, immunomodulatory and anti-HIV effect of mangiferin, a naturally occurring glucosylxanthone. *Chemotherapy* 42: 443–451.
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G.R., Merenstein, D.J., Poot, B., et al. (2014). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and

- Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*; 11(8): 506-514.
- Jin, L. Z., Ho, Y. W., Abdulallah, N., Ali, M. A., Jalaludin, S. (1996). Antagonistic effect of intestinal *Lactobacillus* isolates on pathogens of chickens. *Letters in Applied Microbiology* 23, 67- 71.
- Jorquera, D., Galarce, N., Borie, C. (2015). El desafío de controlar las enfermedades transmitidas por alimentos: bacteriófagos como una nueva herramienta biotecnológica. *Revista Chilena de Infectología*; 32: 678-688
- Jurado Gámez, Henry. A. (2010). Evaluación de bacterias ácido lácticas con características probióticas en la alimentación de lechones en fase de precebo como alternativa al uso de antibióticos. Trabajo de grado presentado para optar al título de Doctor en Ingeniería de Alimentos. Universidad del valle. Santiago de Cali. 2010.
- Jurado-Gámez, H., Martínez-Benavides, J., Paz, C. (2015). Caracterización del proceso de fermentación y del efecto de inhibición de *Lactobacillus lactis* en *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*. *Rev Med Vet*;(30):15-29.
- Kuskoski, E.M., Asuero, A.G., Troncoso, A.M., Mancini-Filho, J., Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas* 25(4): 726-732.
- Lamont, R.F., Sobel, J.D., Akins R.A., Hassan S.S., Chaiworapongsa, T., Kusanovic J.P., Romero, R. (2011). The vaginal microbiome: new information about genital tract flora using molecular based techniques. *BJOG* 118:533-549.
- Lewandowski, C.M. (2015). *Advances in Fruit Processing Technologies*. Vol. 1, The effects of brief mindfulness intervention on acute pain experience: An examination of individual difference., p 1689-1699.
- Luckow, T., Delahunty, C. (2004). Which juice is “healthier”? A consumer study of probiotic non-dairy juice drinks. *Food Qual Prefer*; 15(7-8): 751-759.
- Luckow, T., Sheehan, V., Delahunty, C., Fitzgerald, G. (2005). Determining the Odor and Flavor Characteristics of Probiotic, Healthpromoting Ingredients and the Effects of Ripéate Esposaré on Consumer Acceptance. *J Food Sci* ; 70(1): S53-59.
- Martín, R., Langa, S., Reviriego, C., Jiménez, E., Marín, M.L., Xaus, J., Fernández, L., Rodríguez, J.M.. (2003). Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. *Journal of Pediatrics* 143, 754–758.
- Martins, E.M.F., Ramos, A.M., Vanzela, E.S.L., Stringheta, P.C., De Oliveira Pinto, C.L., Martins, J.M. (2013). Products of vegetable origin: A new alternative for the consumption of probiotic bacteria. *Food Res Int*, 51(2): 764-770.

- Matsumiya, Y., Kato, N., Watanabe, K y Kato, H. (2002). Molecular epidemiological study of vertical transmission of vaginal *Lactobacillus* species from mothers to newborn infants in Japanese, by arbitrarily primed polymerase chain reaction. *J. Infect. Chemother.* 8:43–49.
- Molin, G. (2001). Probiotics in foods not containing milk or milk constituents, with special reference to *Lactobacillus plantarum* 299v. *Am J Clin Nutr*; 73(2 Suppl): 380-385.
- Montes, A., Santacruz, A., Sañudo, J. (2003). Efecto in vitro de *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* sobre el crecimiento de un aislado de *Helicobacter pylori*. San Juan de Pasto, Colombia: Universidad de Nariño. 85p. Trabajo de grado (Biólogo).
- Moussavi, M. y Adams, M.C. (2010). An In Vitro Study on Bacterial Growth Interactions and Intestinal Epithelial Cell Adhesion Characteristics of Probiotic combinations." *Current microbiology*, 327-335.
- Nakamura, K., Arakawa, K., Kawai, Y., Yasuta, N., Chujo, T., Watanabe, M., Iioka, H., Tanioka, M., Nishimura, J., Kitazawa, H., Tsurumi, K., Saito, T. (2013). Food preservative potential of gassericin A-containing concentrate prepared from a cheese whey culture supernatant from *Lactobacillus gasseri* LA39. *Anim. Sci. J.* 84:144–149.
- Nualkaekul, S. y Charalampopoulos, D. (2011). Survival of *Lactobacillus plantarum* in model solution and fruit juices. *Food Microbiology*, 1-38.
- Olagnero, G., Abad, A., Bendersky, S., Genevois, C., Granzella, L., & Montonati, M. (2007). “Alimentos funcionales: fibra, prebióticos, probióticos y simbióticos” *Andeguat*, 25(121), 6-14.
- Olea, A., Díaz, J., Fuentes, R., Vaquero, A., García, M. (2012). Vigilancia de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos en Chile. *Revista Chilena de Infectología*; 29: 504-510.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2011). Guía Práctica de la Organización Mundial de Gastroenterología: Probióticos y prebióticos. Guías Mundiales de la WGO Probióticos y prebióticos. Organización Mundial de la Salud;. p. 29.
- Pereira, F.A.L., Maciel, C.T. y Rodrigues, S. (2011). Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with *Lactobacillus casei*. *Food Research International*, 1276-1283.
- Rai, V., Bai, J. (2015). Probiotics and Prebiotics in Fruits and Vegetables: Technological and Sensory Aspects. In: *Beneficial Microbes in Fermented and Functional Foods*. Taylor & Francis Group. p. 20
- Resolución 333 de 2011 (febrero 10). Diario Oficial No. 47.984 de 15 de febrero de 2011, MPS, Ministerio de la Protección Social. https://docs.supersalud.gov.co/PortalWeb/Juridica/OtraNormativa/R_MPS_0333_2011.pdf
- Robles-Sánchez, R. M., Rojas-Grau, M., Odriozola-Serrano, I., González-Aguilar, G. A., Martín-Belloso, O. (2009). Effect of minimally processing on bioactive compounds
Ivonne Catalina Fajardo-Argotí, Henry Jurado-Gámez,
Verónica Alzate-Amariles

and antioxidant activity of fresh-cut 'Kent' mango (*Mangifera indica* L.). *Postharvest Biology and Technology* 51(3): 384-390.

- Romero-Benavides D.A y Garces-Morillo J.A. (2016). Evaluación In Vitro del efecto Probiótico de *Lactobacillus gasseri* ATCC 19992 y *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* ATCC 11454 SOBRE *Yersinia pseudotuberculosis* NCTC 8580. Trabajo de grado presentado para optar al título de Zootecnista. Universidad de Nariño. Pasto.
- Sánchez, G. M., Re, L., Giuliani, A., Nunez-Selles, A. J., Davison, G. P., Leon Fernández, O. S. (2000). Protective effects of *Mangifera indica* L. extract, mangiferin and selected antioxidants against TPA-induced biomolecules oxidation and peritoneal macrophage activation in mice. *Pharmacology Research* 42: 565–573.
- Santrosch Vacca, Diana. (2006). Evaluación de la calidad y composición química de la carne de res proveniente de animales de dos grupos de edad en Puerto Rico. Tesis Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad de Puerto Rico. Recinto universitario de Mayagüez - Puerto Rico.
- Serna Jiménez, J.A. (2012). Elaboración de Jugos de Fruta con Adición de Bacterias Ácido Lácticas con Potencial Probiótico. (Doctoral dissertation, Tesis, Universidad de la Sabana, Bogotá, Colombia).
- Shah, N.P., Ding, W.K., Fallourd, M.J. y Leyer, G. (2010). Improving the Stability of Probiotic Bacteria in Model Fruit Juices Using Vitamins and Antioxidants. *Journal of Food Science*, M278- M282.
- Shori, A.B. (2016). Influence of food matrix on the viability of probiotic bacteria: A review based on dairy and non-dairy beverages. *Food Biosci*, 13: 1-8.
- Van Winsen et al. Effect of fermented feed on the microbial population of the gastrointestinal tracts of pigs. Citado por García, Et al. crecimiento de bacterias ácido lácticas y levaduras durante la fermentación líquida de excreta de pollos de ceba para la obtención de probióticos. Instituto de ciencia animal. Revista cubana de ciencia agrícola. Vol 42 N° 2. La Habana, Cuba, 2008. p 195.
- Vandenplas, Y., Huys, G., Daube, G. (2015). Probiotics: an update. *J Pediatr (Rio J)*; 91(1): 6-21.
- Vijaya Kumar, B., Vijayendra, S.V.N., Reddy, O.V.S. (2015). Trends in dairy and non-dairy probiotic products - a review. *J Food Sci Tmultiplechnol*, 52(10): 6112-6124.
- Wall, R., Fitzgerald, G., Hussey, S., Ryan, T., Murphy, B., Ross, P., Stanton, C. (2007). Genomic diversity of cultivable *Lactobacillus* populations residing in the neonatal and adult gastrointestinal tract. *FEMS Microbial Ecol* 59:127-137.
- Yoon, K.Y., Woodams, E.E. y Hang, Y.D. (2006). Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria. *Bioresource Technology*, 1427-1430.