

Desarrollo Biotecnológico y Evaluación Fisicoquímica, Microbiológica y Sensorial de un Jugo Funcional, Utilizando (*Lactobacillus casei*) e Inulina

Iván Patricio Salgado Tello,

Cesar Iván Flores Mancheno,

Manuel Enrique Almeida Guzmán,

Profesor de la Facultad de Ciencias Pecuarias Pecuarias, Escuela de Ingeniería en Industrias Pecuarias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador

Nataly Geovanna Pusay-Guanga,

Egresada de Ingeniería en Industria Pecuarias, Escuela de Ingeniería en Industrias Pecuarias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador

Doi: 10.19044/esj.2019.v15n6p287 [URL:http://dx.doi.org/10.19044/esj.2019.v15n6p287](http://dx.doi.org/10.19044/esj.2019.v15n6p287)

Resumen

Le but de l'étude était de déterminer le profil du personnel de radiologie exerçant dans les principales structures sanitaires de Centrafrique et d'y répertorier toutes les installations. C'était étude descriptive réalisée entre le mois d'octobre et le mois de novembre 2018 sous forme d'enquête. L'ensemble du personnel était constitué de 18 praticiens, tous de sexe masculin, avec un moyen de 47,55 ans. La durée moyenne d'années d'expérience était de 12,77ans (extrêmes de 2 à 33 ans). Le personnel était composé de médecins radiologues (n= 4 ; 22,2%), des techniciens supérieurs en radiologie et imagerie médicale (n= 7; 38,9%), des infirmiers diplômés d'Etat (IDE), (n=3 ; 16,7%) et des assistants de santé (AS), (n=4 ; 22,2 %) Il n'existait aucun personnel en matière de radioprotection et de maintenance des installations radiologiques. Le parc radiologique était constitué exclusivement de la radiographie standard et de l'échographie. L'IRM et la TDM ne comptaient pas parmi les installations radiologiques. Le personnel de radiologie et le parc radiologique de Centrafrique ne répondent pas encore aux exigences de la médecine moderne.

Palabras clave: Jugo funcional, Simbiótico, *Lactobacillus casei*, Inulina

Biotechnological Development and Physicochemical, Microbiological and Sensory Evaluation of a Functional Juice, using (*Lactobacillus casei*) and Inulin

Iván Patricio Salgado Tello,

Cesar Iván Flores Mancheno,

Manuel Enrique Almeida Guzmán,

Profesor de la Facultad de Ciencias Pecuarias Pecuarias, Escuela de Ingeniería en Industrias Pecuarias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador

Nataly Geovanna Pusay-Guanga,

Egresada de Ingeniería en Industria Pecuarias, Escuela de Ingeniería en Industrias Pecuarias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador

Abstract

In the ESPOCH, a functional juice was developed and characterized with the addition of *Lactobacillus casei* and inulin, through a completely randomized design in a bifactorial arrangement of 6 treatments and 3 replications, where the A factor is the type of (free or encapsulated) symbiotic and the B factor is the levels (100, 150 and 200) ppm. Obtaining in all treatments a product microbiologically suitable for consumption, as indicated by the INEN 2337 Standard, where the presence of mesophilic aerobes, molds and yeasts are within the established limits. The physical and chemical analyzes differ significantly in the parameter corresponding to the types of symbiotic but not for the levels. It can be determined that the use of 150 ppm of free symbiotic obtained the best sensory characteristics and the highest growth of *Lactobacillus casei*, values of $1.05E + 07$ CFU / ml being determined after 18 days of elaboration, being within the INEN 1334-3 norm.

Keywords: Functional juice, Symbiotic, *Lactobacillus casei*, Inulin

Introduction

Los alimentos funcionales son aquellos que, a más de aportar nutrientes, nos 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).

Actualmente son una de las categorías de alimentos más importantes en el mercado global de la salud y bienestar. El creciente número de personas con intolerancia a la lactosa y el vegetarianismo refuerzan la importancia del desarrollo de los productos probióticos no lácteos (Castro, et al., 2017).

En un futuro se preferirán, como está sucediendo actualmente, las bebidas mínimamente procesadas. Una gran proporción de estos productos se destacará por tener una propiedad nutracéutica o funcional (Kac, 2010).

Los probióticos son microorganismos vivos que, ingeridos en cantidades tanto recomendadas como adecuadas, poseen efectos ciertamente beneficiosos para la salud. No obstante, para que estos microorganismos puedan ser probióticos, deben ser de origen humano, no patógenos por naturaleza, resistentes a la destrucción por las secreciones gástricas y biliares, ser capaces de colonizar el tracto gastrointestinal, y ser resistentes a la destrucción por procedimientos tecnológicos (Sánchez et al., 2014).

Las BAL (Bacterias ácido lácticas) son no patógenas, no toxigénicas, Gram positivas, fermentativas, que se asocian a la producción de ácido láctico a partir de carbohidratos, lo que las hace útiles para fermentación de los alimentos. En este grupo se incluyen las especies de *Lactobacillus*, *Lactococcus*, y *Streptococcus thermophilus*. Estos microorganismos no desarrollan olores al crecer en medios comunes, contribuyen a modificar el sabor de alimentos fermentados (Wgo, 2011).

Los *Lactobacillus* crecen bien en medios ligeramente ácidos, con pH inicial de 6,4 – 4,5 y con un óptimo de desarrollo entre 5,5 y 6,2. Su crecimiento cesa cuando el pH alcanza valores desde 3,6 hasta 4,0 en dependencia de especies y cepas, y disminuye notablemente en medios neutros o ligeramente alcalinos (Figueroa, 2006).

Entre los efectos beneficiosos para la salud de las bacterias lácticas se han señalado: una mejor absorción de los nutrientes en los alimentos, la mayoría de los síntomas de intolerancia a la lactosa, la metabolización de algunos fármacos, la caída del colesterol sanguíneo, la disminución de las enzimas implicadas en la cancerogénesis, una mejor motilidad intestinal, la estimulación del sistema inmunitario, la creación de un antagonismo intestinal debido a la producción de inhibidores. Un bloqueo de los sitios de adherencia intestinal de las bacterias patógenas, la inactivación de enteroxinas y la mejoría del estreñimiento (Sanz, 2010).

El *Lactobacillus casei* es una especie de bacteria anaerobia Gram positiva que se encuentra en el intestino y boca de los humanos. Es productora de ácido láctico, se emplea en la industria láctea en la elaboración de alimentos probióticos. Se ha comprobado que esta especie particular de lactobacilo es muy resistente a rangos muy amplios de pH y temperatura, siendo además un complemento al crecimiento de *Lactobacillus acidophilus*, un productor de la enzima amilasa (Jiménez, 2009).

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. Benefician al huésped estimulando de forma selectiva el crecimiento y/o actividad de una o un número limitado de bacterias intestinales (Sánchez et al., 2014).

La Inulina es un fructano polidisperso que consiste en una mezcla de oligómeros y polímeros mayores formados por uniones β -(2-1) fructosil-fructosa. El grado de polimerización (GP) proveniente de la achicoria oscila entre 3 y 60, con un valor promedio de aproximadamente 10. Puede ser sintetizada a partir de la raíz de la achicoria y desde la sacarosa a través de la acción de la β -fructo-furanosidasa (origen: *Aspergillus Níger*). Posee un sabor neutral suave, es moderadamente soluble en agua y otorga cuerpo y palatibilidad (Olagnero et al., 2007).

Los simbióticos son una mezcla de probióticos y prebióticos destinada a aumentar la supervivencia de las bacterias que promueven la salud, con el fin de modificar la flora intestinal y su metabolismo. Con un efecto sinérgico entre ambos, es decir, los prebióticos pueden estimular el crecimiento de cepas específicas probióticos y por tanto contribuir a la instalación de una microflora bacteriana específica (Cagigas et al., 2002).

Un posible vehículo para la introducción de simbióticos en nuestro organismo de manera natural y mediante nuestra alimentación es el jugo, que es un producto realizado en base a frutas, agua y azúcares. El mango ecuatoriano es de excelente calidad y exquisito sabor, debido a alto contenido de carbohidratos, buen contenido de pro-vitamina A, vitamina B - tiamina, riboflavina, niacina y ácido ascórbico, pocas cantidades de calcio, hierro y fósforo. Además, tienen altos contenidos de otros fitoquímicos que no son nutrientes y confieren un beneficio a la salud (Fundación Mango Ecuador, 2018).

Desarrollo:

1. Metodología

1.1. Localización y duración del experimento

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Procesamiento de Alimentos, Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Pecuarias y en el Laboratorio de Investigación de la Facultad de Ciencias pertenecientes a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Ubicada en el km 1 1/2 Panamericana Sur, el mismo que tuvo una duración de 60 días.

1.2. Unidades Experimentales

La unidad experimental estuvo constituida por 5 litros de jugo de mango, a los cuales se les adicionó un simbiótico libre y un simbiótico encapsulado en concentraciones de 100, 150 y 200 ppm.

1.3. Tratamiento y diseño experimental

Se evaluó las características físico químicas, microbiológicas y sensoriales del jugo funcional de mango elaborado con 100, 150 y 200 ppm de producto simbiótico a base de *Lactobacillus casei* e inulina. Se trabajó con un Diseño Completamente al Azar con un arreglo bifactorial donde el factor A es el tipo de simbiótico y el factor B son los niveles de simbiótico, teniendo para cada uno de ellos 3 repeticiones, como se representa en la Tabla 1.

Tabla 1. Esquema del experimento

Tratamiento	ppm	Codificación	Repeticion	T.U.E.	L./Tratamiento
Simbiótico libre	100	SL100	3	5	15
	150	SL150	3	5	15
	200	SL200	3	5	15
Simbiótico encapsulado	100	SE100	3	5	15
	150	SE150	3	5	15
	200	SE200	3	5	15
TOTAL LITROS DE JUGO					90
Tamaño de la unidad experimental: 5 litros de jugo					

1.4. Análisis estadístico y pruebas de significancia

Los resultados obtenidos fueron procesados en el Software Estadístico SPSS Versión 21, en el que se realizaron los siguientes análisis:

Análisis de varianza (ADEVA). El esquema ADEVA se detalla en la Tabla 2.

Separación de medias según prueba de Duncan a los niveles de $P \leq 0.05$ y $P \leq 0.01$.

Análisis de regresión y correlación por el efecto de los niveles.

Tabla 2. Esquema del ADEVA

Fuente de varianza	Grados de libertad
Tipo	1
Niveles	2
Tipo * Niveles	2
Error	12
Total	17

1.5. Procedimiento experimental

Previo a la realización del experimento para la parte del simbiótico libre se adquirió la cepa liofilizada de *Lactobacillus casei* (nutrish431®) de CHR HANSEN en la Distribuidora Descalzi S.A. En tanto que la inulina

Beneo GR se adquirió en la empresa Quifatex. Para su posterior incorporación en el jugo se procedió a la activación de los microorganismos.

Para la realización del jugo con el simbiótico encapsulado, el producto se obtuvo de la investigación denominada “Obtención de un simbiótico encapsulado a base de diferentes niveles de inulina y *Lactobacillus casei*” de la autoría de la Ing. Sandra Silva. El producto simbiótico encapsulado se añadió directamente al jugo.

1.5.1. Activación de los microorganismos

Para la preparación de la solución madre se utilizó 1000 ml de jugo de mango mediante una dilución de agua: pulpa = 1:2.5 (Gasco, 2014).

Al jugo elaborado se le añade (50 mg de Inulina para 100 ppm), (75 mg de Inulina para 150 ppm) y (100 mg de Inulina para 200 ppm). Como cofactor se le añade 0,8 %, (8 g) Fosfato de amonio (Yáñez, 2016).

A la solución madre obtenida se le lleva al agitador magnético durante 5 minutos y se traspara a un frasco termo resistente para esterilizarlo en la autoclave a 121 °C durante 15 minutos.

Subsiguientemente se enfrió a 37 °C para añadir el *Lactobacillus casei* (50 mg para 100 ppm), (75 mg de para 150 ppm) y (100 mg para 200 ppm), respectivamente, agitándolo por 5 minutos y luego realizando la incubación en la estufa a 37°C por 48 horas.

1.5.2. Elaboración del jugo de Mango

Para la elaboración del jugo de fruta se procedió con la recepción de la materia prima (suero de leche fresco, el mango, azúcar y leche condensada), para la posterior selección de mangos en buen estado, desinfección, pelado, licuado y tamizado.

La formulación es una etapa importante en el proceso ya que de esta dependerá la aceptabilidad de los consumidores, los pesos y cantidades que utilizaron se muestran a continuación en la Tabla 3.

Tabla 3. Formulación jugo de mango

Ingrediente	%
Suero de leche	67.7
Mango	22.6
Azúcar	7.62
Leche condensada	2.08
Total	100

Posterior a la formulación y pesado del jugo se pasteurizo a 70 °C durante 30 minutos, y luego se enfrió a 37 °C.

Para el tratamiento con el simbiótico libre se mezcló el jugo incubado en relación 1:1 con el jugo recién elaborado (Vela et al., 2011).

Mientras que para el tratamiento con el simbiótico encapsulado se pesó las partes por millón de simbiótico de acuerdo a los niveles 100, 150 y 200 ppm; y se adicionó directamente en el jugo.

Los jugos resultantes fueron colocados en frascos previamente esterilizados, rotulados y refrigerados a 4 °C.

1.6. Metodología de evaluación

La investigación se realizó en la planta de Procesos de Alimentos de la Facultad de Ciencias Pecuarias, donde se elaboró el jugo de mango funcional.

1.6.1. Parámetros microbiológicos

Para la determinación de bacterias ácido lácticas se empleó la norma ISO, UNE 4833-1:2014, mientras que para aeróbios mesófilos la norma INEN 1529-5 (2006) y la norma NTE INEN 1529-10 (2010) para mohos y levaduras.

1.6.2. Parámetros físico químicos

La determinación del pH se la realizó mediante el método descrito por la norma INEN 1842 (2013), para la acidez se utilizó la norma INEN 750 (2013), mientras que para la densidad se utilizó la norma INEN 391 (2012). En cuanto que para la viscosidad se utilizó la técnica en donde colocamos la aguja número 4 (según la viscosidad del fluido) en el viscosímetro rotacional, luego se enciende el equipo y calibrarlo a 60 rpm y a SPL4, para luego colocar 250 ml de muestra en un vaso de precipitación que será depositado en el equipo, para tomar la lectura resultante (Ariza, 2016).

1.6.3. Valoración Organoléptica

Para establecer el grado de aceptación del jugo funcional de mango, utilizamos un método afectivo, aplicando la prueba escalar hedónica verbal, como lo indica la norma ISO 11136.

Discusión

2. Microbiológicos

En la Tabla 4 se puede observar el comportamiento microbiológico del jugo funcional con la adición de *Lactobacillus Casei* e inulina.

2.1. Activación del *Lactobacillus Casei*

A partir de la activación, se realizó el recuento microbiológico a los 48 días de incubación del microorganismo, con lo cual se halló los valores reportados en la Tabla 4. Existiendo mayor crecimiento de *Lactobacillus Casei* al utilizar 200 ppm de producto simbiótico.

2.2. Bacterias ácido lácticas (*Lactobacillus casei*)

Al analizar el jugo funcional elaborado con la adición de *Lactobacillus casei* e inulina, como se observa en la *Tabla 4* se encontraron diferencias altamente significativas ($P < 0.01$), por efecto del tipo de simbiótico libre y encapsulado, a los 4, 11, 18 y 25 días desde la elaboración del jugo.

En el tratamiento con simbiótico libre el *Lactobacillus casei*, presenta la fase de adaptación hasta los 11 días, entonces comienza la fase exponencial hasta los 18 días, continuando con la fase estacionaria y finalmente a partir del día 18 la población microbiana comienza a morir, al igual que con el simbiótico encapsulado.

Existe crecimiento de *Lactobacillus casei* a partir de los 11 días en los diferentes niveles de 100, 150 y 200 ppm de simbiótico, teniendo como resultado $4,72E+05$ UFC/ml para 100 ppm; $6,74E+05$ UFC/ml para 150 ppm y $7,47E+05$ UFC/ml para 200 ppm.

A los 25 días de elaboración del jugo se determinó una concentración de microorganismos de $3,24E+06$ UFC/ml para 100 ppm, $3,07E+06$ UFC/ml para 150 ppm y $3,98E+06$ UFC/ml para 200 ppm. Siendo el mejor tratamiento con 150 ppm de simbiótico ya que comenzó con una concentración de microorganismos alta que a su vez se mantuvo en el tiempo.

Según el INEN 1334-3:2011, para que un alimento sea considerado funcional debe contener un número mayor o igual de bacterias viables de origen probiótico a 1×10^6 UFC/g en el producto terminado hasta el final de la vida útil, encontrándose dentro de la norma.

La diferencia en la población microbiana entre los tratamientos con el simbiótico libre y encapsulado, se debe a que el primero fue activado antes de su introducción en el jugo. Existiendo mayor desarrollo microbiano en el tratamiento con el simbiótico libre, ya que se permitió que el *Lactobacillus casei* se adapte primero a las condiciones del medio para luego sobrevivir en él. Además, el tratamiento con el simbiótico encapsulado estuvo conservado a temperatura ambiente y fue aplicado en la presente investigación después de 30 días de la encapsulación del simbiótico, lo que implicó una reducción de la población microbiana durante su periodo de almacenamiento, pudiendo corroborarse con dos investigaciones indicando que las muestras de microorganismos almacenados a 20 °C, disminuyen su viabilidad a los 21 días de almacenamiento (Molina, 2016).

La reducción del crecimiento microbiano es más frecuente durante el almacenamiento a 25 °C, donde se reducen en aproximadamente 2 unidades logarítmica después de 10 días de almacenamiento (Yeo et al., 2011).

En el presente trabajo los resultados al inicio del periodo de investigación fueron de $6,77E+06$ UFC/ml y $1,70E+04$ UFC/ml para el simbiótico libre y encapsulado respectivamente. Mientras que a los 25 días

solamente para el simbiótico libre se obtuvo un recuento microbiano de $6,77E+06$ UFC/ml y de $8,37E+04$ UFC/ml para el simbiótico encapsulado.

El crecimiento del *Lactobacillus casei* Shirota en la investigación de viabilidad con una concentración de 7.83×10^7 [UFC/mL], es superior a la concentración presentada por *Lactobacillus Rhamnosus*, sin embargo, la disminución de la población es mucho mayor, observándose que a los 8 días de almacenamiento presenta una concentración de 3.30×10^6 [UFC/mL], la cual disminuye a 10^6 [UFC/mL] a los 10 días de almacenamiento, presentando una concentración final de 7.33×10^3 [UFC/mL] a los 20 días de experimentación (Villavicencio, 2006).

El uso de frutas y vegetales como matrices y medios de crecimiento, confiere beneficios al microorganismo probiótico por los diferentes componentes que contienen (Pereira et al., 2011).

2.3. Mohos y levaduras

En mohos y levaduras se encontró diferencias altamente significativas por efecto del tipo de simbiótico libre o encapsulado ($P < 0.01$) a los 4, 18 y 25 días, de elaboración del jugo funcional.

El jugo funcional con el simbiótico libre inicio con 243 UP/ml, al transcurrir el período de investigación, este tipo de microorganismos va disminuyendo debido a que los microorganismos probióticos inhiben la proliferación de los microorganismos patógenos. Como lo indica (James et al., 2017) quien manifiesta que la inulina es un fructooligosacárido cuya función prebiótica contribuye a la proliferación de la micro-flora intestinal y evita el crecimiento de microorganismos patógenos.

Estos resultados son similares a los reportados por (Dicagno et al., 2012) quienes reportaron la presencia de flora acompañante en batidos mixtos de fruta (rojos: cerezas, tomate, moras y ciruelas pasas; verdes: kiwi, hinojo, espinaca y papaya) almacenados a $8,0^\circ\text{C}$

En tanto que para el simbiótico encapsulado comenzó con 145 UP/ml y estos incrementan durante la investigación hasta llegar a 500 UP/ml a los 25 días. Esto se debe a que las bacteriocinas producidas por *el Lactobacillus casei* se quedan dentro de la cápsula y no interactúan con el medio.

Según las normas INEN 2337:2008, el jugo de fruta debe contener máximo 1000 UFC/ml, valor superior al encontrado en el estudio, por lo que el producto es apto para el consumo.

Los mohos y levaduras según los niveles de simbiótico del jugo funcional se pueden mencionar que se encontró diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) por efecto de los niveles de simbiótico 100, 150 y 200 ppm para los 4 días de elaboración del jugo funcional. En tanto que para los 11, 18 y 25 días no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$).

A los 4 días de elaboración del jugo se presentan valores de 122 UP/ml con 100 ppm, 291 UP/ml con 150 ppm y 169 UP/ml con 200 ppm. Mientras que a los 25 días elaboración del jugo encontramos valores 279 UP/ml con 100 ppm, 185 UP/ml con 150 ppm y 336 UP/ml con 200 ppm. Notándose un incremento en los tratamientos con 100 y 200 ppm pero un descenso de mohos y levaduras en el tratamiento con 150 ppm esto puede deberse a que existió mejor simbiosis.

Al aplicar 100 ppm de producto simbiótico los mohos y levaduras se incrementa en un 17.92 %, en tanto que a partir del uso de 150 ppm de producto simbiótico se reduce en 5 %. Esto quiere decir que el efecto simbiótico del *Lactobacillus casei* y la inulina hacen efecto a partir de las 150 ppm.

2.4. Aerobios mesófilos

Al realizar los análisis microbiológicos en el jugo funcional elaborado con la adición de *L. casei* e inulina, se halló diferencias altamente significativas por efecto de los tipos de simbiótico libre y encapsulado a los 3, 10 y 24 días desde la elaboración del jugo ($P < 0.01$). Encontrándose en el día 17 diferencias significativas ($P < 0.05$).

El simbiótico libre inicio con 1670 UFC/ml mientras transcurrió la investigación disminuyó hasta llegar a 465 UFC/ml. El simbiótico encapsulado comenzó con 451 UFC/ml y al cabo de los 24 días llego a 195UFC/ml. Se debe a que en el tratamiento con el simbiótico libre existió un descenso de pH acompañado de la producción de bacteriocinas.

Según las normas INEN 2337:2008, el jugo de fruta debe contener como máximo hasta 3000 UFC/ml, valor superior al encontrado en el presente estudio por lo que nuestro jugo es apto para el consumo.

En el jugo funcional no encontramos diferencias significativas para ninguno de los niveles 100, 150 y 200 ppm ($P > 0.05$).

Al utilizar 100 ppm de producto simbiótico no se observó disminución de aerobios mesófilos, en cambio en los niveles de 150 y 200 ppm de simbiótico existió un descenso de aerobios mesófilos debido al papel antagonico que realizan los *lactobacillus* en contra de estos. En concordancia con lo que indica (Heredia et al., 2017), quien menciona que uno de los factores que podría estar involucrado en la actividad antagonica observada de las Bacterias ácido lácticas, podría ser la producción de sustancias tipo bacteriocinas, siendo a nivel biológico además de la producción de bacteriocinas, la exclusión competitiva y la disminución del pH, podrían también estar involucradas en los procesos de antagonismo. Dentro del metabolismo de las bacterias ácido lácticas, la producción de ácido láctico y ácidos orgánicos que disminuyen el pH del medio, tienen también un efecto

importante para inhibir el crecimiento de bacterias sensibles a la acidez, generando el permeado de la membrana de algunas bacterias.

En el caso del simbiótico encapsulado este presenta una mayor población de aerobios debido a que las bacteriocinas y el ácido láctico producidos por *el Lactobacillus casei* permanecen dentro de la capsula.

Tabla 4. Características microbiológicas del jugo funcional elaborado con la adición de simbiótico a base de *Lactobacillus Casei* e inulina

Parámetros	Tipo					Niveles de simbiótico								
	Libre		Encapsulado		E.E.	Prob.	100		150		200		E.E.	Prob.
<i>Lactobacillus casei</i>														
4 días	1,08E+06	a	1,70E+04	b	1,31E+05	0,000	2,80E+05	a	5,35E+05	a	8,35E+05	a	1,60E+05	0,087
11 días	1,14E+06	a	1,25E+05	b	5,58E+04	0,000	4,72E+05	b	6,74E+05	ab	7,47E+05	a	6,83E+04	0,038
18 días	1,05E+07	a	1,88E+05	b	1,04E+06	0,000	3,52E+06	a	6,77E+06	a	5,68E+06	a	1,80E+06	0,226
25 días	6,77E+06	a	8,37E+04	b	6,01E+05	0,000	3,24E+06	a	3,07E+06	a	3,98E+06	a	7,36E+05	0,656
Mohos y levaduras														
4 días	2,43E+02	a	1,45E+02	b	1,94E+01	0,004	1,22E+02	b	2,91E+02	a	1,69E+02	b	2,37E+01	0,001
11 días	1,33E+02	a	1,77E+02	a	2,34E+01	0,206	1,49E+02	a	1,79E+02	a	1,37E+02	a	2,86E+01	0,583
18 días	5,20E+01	b	3,56E+02	a	4,06E+01	0,000	1,92E+02	a	1,76E+02	a	2,43E+02	a	4,97E+01	0,622
25 días	3,30E+01	b	5,00E+02	a	4,50E+01	0,000	2,79E+02	a	1,85E+02	a	3,36E+02	a	5,51E+01	0,190
Aerobios mesofilos														
3 días	1,67E+03	a	4,65E+02	b	1,43E+02	0,000	8,65E+02	a	1,10E+03	a	1,24E+03	a	1,75E+02	0,342
10 días	1,34E+03	a	6,92E+02	b	1,45E+02	0,008	1,19E+03	a	8,41E+02	a	1,01E+03	a	1,77E+02	0,219
17 días	9,48E+02	a	1,12E+03	a	1,97E+02	0,542	1,29E+03	a	8,38E+02	a	9,85E+02	a	2,41E+02	0,435
24 días	4,51E+02	b	1,95E+03	a	1,57E+02	0,000	1,30E+03	a	8,11E+02	a	1,49E+03	a	1,92E+02	0,072
E.E.: Error estándar.														
Prob.>0.05: No existen diferencias estadísticas.														
Prob. <0.05: Existen diferencias significativas.														
Prob. <0.01: Existen diferencias altamente significativas.														

3. Análisis Físico Químicos

En la Tabla 5 se puede demostrar el comportamiento del producto en cuanto a sus características físico químicas.

Tabla 5. Características físico químicas del jugo funcional elaborado con la adición de simbiótico a base de lactobacilos e inulina

Parámetros	Tipo						Niveles de simbiótico							
	Libre		Encapsulado		E.E.	Prob.	100		150		200		E.E.	Prob.
Físico químicas														
pH	3,973	a	3,737	b	0,040	0,017	3,803	a	3,757	a	3,735	a	0,021	0,109
Acidez, °D	38,583	b	42,22	a	0,546	0,001	40	a	40,583	a	40,625	a	0,668	0,765
Densidad, g/ml	1,096	a	1,065	b	0,004	0,000	1,083	a	1,078	a	1,08	a	0,005	0,846
Viscosidad, Pa*s	108,286	a	108,311	a	0,268	0,268	108,288	a	108,296	a	108,313	a	0,019	0,638
E.E.: Error estándar.														
Prob.>0,05: No existen diferencias estadísticas.														
Prob. <0,05: Existen diferencias significativas.														
Prob. <0,01: Existen diferencias altamente significativas.														
Medias con letras distintas en una misma fila difieren estadísticamente de acuerdo a la prueba de Duncan.														

3.1. pH

De acuerdo a la Tabla 5 se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) para el jugo con el simbiótico libre y encapsulado 3,97 pH y 3,73 pH respectivamente, mientras que por efecto de los niveles de simbiótico no existen diferencias significativas ($P > 0.05$).

Según las normas INEN 2337:2008, el jugo de fruta debe contener valores inferiores a 4,5 en pH, valor superior al encontrado en el presente estudio, por lo que el jugo se encuentra dentro de los requerimientos.

Según (Vergara, 2017), puede señalar que el pH influye sobre la viabilidad de *Lactobacillus casei* reduciendo la viabilidad de la bacteria en el tiempo, esto se atribuye a la disminución del pH del medio y de la acumulación del ácido láctico.

3.2. Acidez, °D

Se encontraron diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) para el jugo con el simbiótico libre y encapsulado 58,38 °D y 42,22 °D respectivamente, mientras que para los niveles no existen diferencias significativas ($P > 0.05$).

En los estudios realizados por (Yoon et al., 2004), el *Lactobacillus casei* sobrevivió en jugo de tomate a pH bajo de 3,5 y altas condiciones de acidez durante 4 semanas de conservación en cámara frigorífica a 4° C; se observa una disminución de pH y un aumento de acidez por formación de ácido láctico. Además, los recuentos de células viables disminuyeron levemente. Este mismo comportamiento se observa en el jugo funcional de mango.

3.3. Densidad g/ml

Se encontraron diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) para el jugo con el simbiótico libre y encapsulado 1,09 g/ml y 1,06 g/ml respectivamente. Debido a que la capsula con el simbiótico presento menor densidad, en relación a lo indicado por (Silva, 2018), quien manifiesta en su investigación que no se presentaron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre los tratamientos.

A diferencia de los niveles de simbiótico 100, 150 y 200 ppm no existen diferencias significativas ($P > 0.05$) entre ellos.

Estos resultados permiten deducir que las densidades del encapsulado dependerán de muchos factores uno de ellos del peso molecular del material encapsulante, puesto que mayor peso del mismo mayor será la densidad.

3.4. Viscosidad, Pa*s

No se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) para el jugo con el simbiótico libre y encapsulado, al igual que los niveles.

En investigaciones como la de (Muñoz, 2007), se espera un cambio de viscosidad en el tiempo, debido a la incorporación de prebióticos y/o la producción de exopolisacáridos por las cepas seleccionadas.

4. Análisis Sensorial

En la Tabla 6 se puede observar las diferentes valoraciones y apreciaciones que realizarón consumidores afectivos mediante la norma ISO 111363 Sensory analysis — Methodology — General guidance for conducting hedonic tests with consumers in a controlled área.

4.1. Valoración global

Como se observa en la Tabla 6, en el jugo funcional se encontraron diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) para los tipos de simbiótico libre y encapsulado, así como para los niveles de simbióticos 100, 150 y 200 ppm.

Calculamos valores de 12,803 y 12,776 para el simbiótico libre y encapsulado respectivamente. Según los niveles de simbiótico aplicados la mayor puntuación 13,97 se alcanzó al utilizar 150 ppm de simbiótico, seguido del tratamiento con 100 ppm con un valor de 12,705 y por último el tratamiento con 200 ppm con 11,69, siendo el mejor tratamiento al utilizar 150 ppm de simbiótico libre, esto puede deberse a que el mismo proporcione un olor ligero acompañado de un leve sabor a fermentado, donde predomina el sabor del mango, la textura de este fue viscosa y homogénea.

Tabla 6. Valoración de las características organolépticas funcional con la adición de un producto simbiótico a base de lactobacilos e inulina.

Parámetros	Tipo				Niveles de simbiótico									
	Libre		Encapsulado		E.E.	Prob.	100		150		200		E.E.	Prob.
Olor. 5 puntos	3,157	a	3,151	b	0,002	0,045	3,142	b	3,52	a	2,8	c	0,002	0,000
Sabor. 5 puntos	2,82	a	2,813	a	0,055	0,002	2,462	c	3,108	a	2,88	b	0,003	0,000
Textura. 5 puntos	3,423	a	3,414	b	0,002	0,015	3,522	b	3,572	a	3,163	c	0,003	0,000
Aspecto. 5 puntos	3,407	a	3,397	b	0,002	0,008	3,58	b	3,772	a	2,853	c	0,003	0,000
Total. 20 puntos	12,803	a	12,776	b	0,006	0,006	12,705	b	13,972	a	11,692	c	0,007	0,000
E.E.: Error estándar.														
Prob.>0,05: No existen diferencias estadísticas.														
Prob. <0,05: Existen diferencias significativas.														
Prob. <0,01: Existen diferencias altamente significativas.														
Medias con letras distintas en una misma fila difieren estadísticamente de acuerdo a la prueba de Duncan.														

Conclusiones y Recomendaciones

Al adicionar 150 ppm de simbiótico libre se alcanzó mayor crecimiento de *Lactobacillus casei* 1,05E+07 UFC/ml en la fase estacionaria, mientras la cantidad de aerobios mesófilos así como los mohos y levaduras no pasaron los límites establecidos por la norma INEN 2337:2008 considerándose un producto apto para el consumo, mientras que en los parámetros físicos químicos se hallaron diferencias significativas de acuerdo al tipo de simbiótico, y no existen diferencias para los niveles. Encontrándose un pH de 3,97; acidez de 38,58 °D; densidad de 1,096 g/ml; viscosidad 108,286 Pa*s para el simbiótico libre mientras que para el encapsulado un pH de 3,583; acidez de 42,22 °D; densidad de 1,065g/ml; viscosidad 108,311Pa*s. los mismos que se encuentran dentro de la norma INEN 2337:2008. El jugo funcional de mayor aceptación sensorial se obtuvo al utilizar 150 ppm de simbiótico libre el mismo que alcanzó un puntaje de 13,987/ 20 puntos. Por lo que se recomienda utilizar 150 ppm de simbiótico libre para la elaboración del jugo funcional de mango, ya que presentó buen número bacterias ácido lácticas que contribuyen al alimento en lo que se refiere a las características sensoriales, de conservación, valor nutricional y sus diferentes propiedades metabólicas que posteriormente serán aprovechadas por el consumidor.

References:

1. Ariza, M. (2016). *Comportamiento Reológico De Fluidos Complejos. Materiales Industriales*, Ingeniería Técnica Industrial – Mecánica, CIITE.
2. Cagigas, A., & Anesto, J. (2002). Prebióticos y probióticos, una relación beneficiosa. (Revista Cubana Aliment Nutricion. Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos) Recuperado de: http://bvs.sld.cu/revistas/ali/vol16_1_02/ali10102 (accedido el 05/03/2018).
3. Castro, C., Díaz, C., & Gutiérrez, C. (2017). “Probióticos y prebióticos en matrices de origen vegetal: Avances en el desarrollo de bebidas de frutas” *Revista Chilena de Nutricion*, 44(4), 5-10.
4. DiCagno, R., Minervini, G., Rizzello, G., Angelis, M., y Gobbetti, M. (2011). NCBI: Effect of lactic acid fermentation on antioxidant, texture, color and sensory properties of red and green smoothies. *Food Microbiology*, 28(5), 750-920.
5. Figueroa, I. (2006). *El Beneficio de los probioticos*. Iztapalapa: Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana.
6. Fundación Mango Ecuador. (2018). Exportadores de Mango, Variedades de Mango Ecuatoriano. p. 5. *Fundación Mango Ecuador*.

7. G. Kac, G. A. (2010). *Epidemiología de la desnutrición en Latinoamérica: situación actual*. Nutricion Hospitalaria, 51.
8. Gasco, R. (2014). *Elaboración Néctar de Mango*. Riobamba: Fundación Mango Ecuador.
9. Heredia, González, & Vallejo. (2017). “Bacteriocinas de Bacterias Ácido Lácticas” (redalyc.org, Ed.) Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal, 42(6). 5-11.
10. INEN 1529-10. (2010). CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS. MOHOS Y LEVADURAS VIABLES. RECuentOS EN PLACA POR SIEMBRA EN PROFUNDIDAD. Norma Técnica Ecuatoriana.
11. INEN 1529-5. (2006). CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS. DETERMINACIÓN DE LA CANTIDAD DE MICROORGANISMOS AEROBIOS MESÓFILOS. REP. Norma Técnica Ecuatoriana.
12. INEN, 1334.-3. (2011). ROTULADO DE PRODUCTOS ALIMENTICIOS PARA CONSUMO HUMANO. PARTE 3. REQUISITOS PARA LAS DECLARACIONES NUTRICIONALES Y DECLARACIONES SALUDABLES. Norma Técnica Ecuatoriana.
13. ISO 111363:2014 Sensory analysis — Methodology — General guidance for conducting hedonic tests with consumers in a controlled area. First Edition.
14. ISO 4833-1:2014 Microbiología de la cadena alimentaria. Método horizontal para el recuento de microorganismos. Recuperado de <https://www.une.org/encuentra-tu-norma/busca-tu-norma/norma/?c=N0052559> (accedido 01/02/2018).
15. James, M., Velastegui, E., & Cruz, M. (2017). Evaluación de las condiciones de cultivo de *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus casei* a nivel de laboratorio, con inulina como fuente de carbono. (E. Universidad de las Americas, Ed.) Recuperado de <http://www.revistabionatura.com/files/2017.02.01.4.pdf> (accedido el 20/12/2017).
16. Jimenez, A. (2009). *Efectos de diferentes farmacos sobre el crecimiento de Lactobacillus casei*. Instituto Politecnico Nacional, Escuela de Ciencias Biologicas.
17. Molina, M. (2016). *Desarrollo de leche de soya en polvo con un ingrediente funcional por medio de la microencapsulacion de cultivos probioticos*. Escuela Politecnica Nacional.
18. Muñoz, L. (2007). *Diseño Y Evaluación De Una Bebida Funcional En Base A Cranberry Prebiótico Y Probiótico*. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas.

19. NTE INEN 2337. (2008). JUGOS, PULPAS, CONCENTRADOS, NECTARES, BEBIDAS DE FRUTAS Y VEGETALES. REQUISITOS. Norma Tecnica Ecuatoriana.
20. 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.
21. Pereira, F., y Maciel, C. (2011). Elsevier: Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with *Lactobacillus casei*. *Food Research International*, 44(5), 1276-1283.
22. Sanchez, E., Laguno, I., & Garcia, J. (2014). *Alimentación Equilibrada*. I.E.S. Martínez Urbarri.
23. Sanz, B. (2010). *Alimentacion probiotica y bacterias lacticas*. Facultad de Veterinaria, Universidad Computense de Madrid, 3.
24. Silva, S. (2018). “Obtención De Un Simbiótico Encapsulado A Base De Diferentes Niveles De Inulina Y *Lactobacillus Casei*” *Espoch*, Escuela de Ingenieria en Industrias Pecuarias.
25. Vela, G., & Castro, M. (2011). *Bebida probiótica de lactosuero adicionada con pulpa de mango y almendras*. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas.
26. Vergara, A. (2017). *Estudio de la Viabilidad de *Lactobacillus casei**. Universidad Austral De Chile, Facultad De Ciencias Agrarias, Escuela De Ingeniería En Alimentos.
27. Villavicencio, L. (2006). *Viabilidad de *Lactobacillus casei* Shirota y *Lactobacillus rhamnosus* en Jugo de Cranberry*. Universidad Austral De Chile- Escuela De Ingeniería En Alimentos.
28. WGO.(2011). Probióticos y prebióticos. *Guías Mundiales de la World Gastroenterology* (Organización Mundial de Gastroenterología) Recuperado de <http://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/probiotics-spanish> (accedido el 04/03/2018).
29. Yeo, S., Ewe, J., & Liong, M. (2011). “Carries of Probiotics Biology” *Genetics and Health Aspects*, 21(1), 191–220.
30. Yoon, K., Woodams, E., & Hang, Y. (2004). *Probiotication of Tomato Juice by Lactic Acid Bacteria*. *The Journal of Microbiology*, 42(4).