

Estudio de la viabilidad del *Lactobacillus casei* en jugo de naranja (*Citrus sinensis*) adicionado con vitamina C, Calcio y oligofruktosa¹

Feasibility study of *Lactobacillus casei* in orange juice (*Citrus sinensis*) supplemented with vitamin C, calcium and oligofruktose

M. C. Londoño, J. C. Lucas y V. D. Quintero

Recibido Marzo 27 de 2015 – Aceptado Septiembre 23 de 2015

Resumen — Se utilizó la Naranja Valencia para producir un jugo enriquecido con bacterias probióticas (*Lactobacillus casei*). Se evaluó la concentración óptima de estabilizante realizando un berrido con tres tipos de gomas (Xantan, CMC, y pectina), evaluado mediante un arreglo factorial 3³. Posteriormente se adicionó el microorganismo a tres concentraciones diferentes (0,4 -0,5 y 0,6 Mc – Farland) y los compuestos fisiológicamente activos (Calcio y vitamina C) en un 20% del valor diario recomendado según la resolución 333 de 2011 del ministerio de protección social. Los resultados mostraron que se debe adicionar Pectina 0.02 %, CMC 0.015 % y Xantan 0.014 %. El análisis de la concentración de microorganismos durante el tiempo de almacenamiento muestra que la concentración inicial aumentó hasta llegar a $7.21 \cdot 10^9$ UFC, y el pH permaneció constante desde el día 15 hasta el 20 en 3.8.

Palabras clave— naranja, jugo, bacterias probióticas.

Abstract— Valencia Orange was used to produce a juice enriched with probiotic bacteria (*Lactobacillus casei*). The optimal concentration of stabilizer was evaluated by

performing a screening with three types of gums (xanthan, CMC, and pectin), evaluated using a factorial arrangement 3³. Subsequently the microorganism at three different concentrations (0.4 -0.5 and 0.6 was added 6 Mc - Farland) and physiologically active compounds (calcium and vitamin C) 20% of the recommended daily value according to the resolution 333 of 2011 the ministry of social protection. The results showed that 0.02% pectin, CMC and Xanthan 0.015% 0.014% should be added. The analysis of the concentration of microorganisms during storage time shows that the initial concentration increased up to $7.21 \cdot 10^9$ CFU, and the pH remained constant from day 15 to 20 in 3.8.

Key words—juice, orange, probiotic bacteria.

I. INTRODUCCIÓN

Los alimentos funcionales se definen como aquellos que además de suministrar nutrientes, ofrecen beneficios potenciales para la salud que puede mejorar el bienestar de los individuos. Ellos afectan una o más funciones diana del organismo, más allá de su efectos nutricionales, ya sea para mejorar la salud y/o reducir el riesgo de la enfermedad [1], y deben, por varias definiciones, ser consumidos como parte de un patrón normal de alimentos y no como una píldora, una cápsula, o alguna forma de suplemento dietético. [2]

Los probióticos proporcionan una serie de beneficios para la salud, principalmente a través del mantenimiento de la microbiota intestinal normal, la protección contra patógenos gastrointestinales, mejora del sistema inmune, reducción del nivel de colesterol sérico y la presión sanguínea, la actividad

¹ Producto derivado del proyecto de investigación “Estudio de la viabilidad de *Lactobacillus casei* en jugo de naranja, fortificados con calcio, vitamina C y adicionado con oligofruktosa.”. Presentado por el Grupo de Investigación Agroindustria de frutas tropicales, avalado por la Facultad de ciencias básicas y facultad de ciencias agroindustriales de la Universidad del Quindío.

J. C. Lucas y V. D. Quintero, son docentes del Programa de Ingeniería de Alimentos, Facultad de Ciencias Agroindustriales de la universidad del Quindío, Armenia, Quindío (Colombia); email: jclucas@uniquindio.edu.co y victordumar@uniquindio.edu.co

M. C. Londoño, es docente del Programa de Química, Facultad de ciencias básicas de la universidad del Quindío, Armenia, Quindío (Colombia); email: mariace0116@gmail.com

anti-cancerígena, la mejora de nutrientes y la mejora el valor nutritivo de los alimentos. Las aplicaciones terapéuticas de los probióticos incluyen la prevención de la diarrea infantil, enfermedades urogenitales, osteoporosis, alergia a los alimentos y enfermedades atópicas; la reducción de la diarrea provocada por anticuerpos; alivio de la constipación y la hipercolesterolemia; control de las enfermedades inflamatorias del intestino; y la protección contra el cáncer de colon y la vejiga. [3], [4] y [5]

El éxito significativo se ha logrado durante las últimas décadas en el desarrollo de productos que contienen bacterias probióticas, tales como leches fermentadas, helados, varios tipos de queso, comida para bebés, leche en polvo, postres lácteos congelados, bebidas a base de suero, crema agria, suero de mantequilla, la leche líquida normal y jugos de fruta con sabores semejantes a las materias primas originales. [6]

La obtención de jugos de frutas con probióticos cobija a todos aquellos consumidores que son intolerantes de alguna forma a los productos lácteos, pudiéndose aprovechar de alguna manera este tipo de alimentos básicos como alimentos funcionales [7]. Los jugos de frutas se han considerado adecuados para la adición de cultivos probióticos porque ya contienen nutrientes beneficiosos, los cuales aportan perfiles de sabor agradables para consumidores de todas las edades [8], [9] y [1], además de hacer parte de la dieta de una gran proporción de la población colombiana, permitiendo que este tipo de alimento funcional sea accesible en cualquier nicho de mercado.

La producción de jugos y pulpas naturales funcionales es limitada debido al bajo conocimiento que se tiene del comportamiento de las matrices de los constituyentes de estas bebidas en el momento de procesarlas y conservarlas. Además la mayoría de los productos del mercado proporcionan al consumidor los componentes nutricionales básicos de cada fruto sin aportar otros compuestos que sean bioactivos en el ser humano [6].

Dentro de la normatividad que rige este tipo de alimentos existen diversos tipos: la Norma General del Codex para Zumos (Jugos) y Néctares de Frutas (Codex Stan 247-2005) y la Resolución del Ministerio de Salud No 7992 del 21 de Julio de 1991, por la cual se reglamentan los diversos parámetros relacionados con la elaboración, conservación y comercialización de jugos, concentrados, néctares, pulpas azucaradas y refrescos de frutas. Otra definición sobre los productos líquidos de las frutas la propone el Instituto Colombiano de Normas Técnicas en su Norma 695.

Para la elaboración del jugo de naranja, éste debe tener una acidez (expresada como ácido cítrico anhidro) de 0.5% m/m Mínimo, 9°Brix (a 20°C), un porcentaje de agua de 70 a 95%, debe estar libre de materias extrañas, admitiéndose una separación en fases y la presencia mínima de trozos, partículas oscuras propias de la fruta utilizada, libre de sabores extraños. El color y olor semejante al de la fruta de la cual se ha extraído. El producto puede presentar un

ligero cambio de color, pero no un color extraño debido a la alteración o elaboración defectuosa según el Instituto Colombiano de Normas Técnicas en su Norma 695.

El objetivo principal de este trabajo fue el de estabilizar el jugo de naranja obtenido, adicionarle el microorganismo (*L. casei*) los compuestos fisiológicamente activos (Calcio, Vitamina C y oligofruktosa) y estudiarlo fisicoquímica y sensorialmente.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Obtención del Jugo

Las naranjas fueron adquiridas en la central de acopio de alimentos de la ciudad de Armenia, Quindío, Colombia, en el mismo estado de maduración. Posteriormente fueron llevadas al Laboratorio de Diseño de Nuevos Productos de la Universidad del Quindío, localizado en la misma ciudad. Las frutas se lavaron con hipoclorito de sodio y se escaldaron a 75°C por 1 minuto. El jugo de naranja se extrajo empleando un exprimidor de marca Oster 3190 Rotación Bidireccional, tomando como referencia la NTC 5468, posteriormente se homogeneizó en ultraturax a 2500 rpm durante 90 segundos a temperatura ambiente y finalmente se filtró sobre una malla con tamaño de poro de 100 μm . [10]

B. Caracterización inicial del jugo

El jugo de naranja obtenido se caracterizó fisicoquímicamente, determinando el color mediante un espectrofotómetro Minolta. A partir de los espectros de reflexión de las muestras se determinaron las coordenadas del CIE-L*a*b*. A partir de los espectros de reflectancia se cuantificó el parámetro ΔE para determinar el cambio de color global en los tratamientos [11], los sólidos solubles se determinaron en un refractómetro de mesa marca THERMO, la acidez titulable expresada como porcentaje de ácido cítrico se determinó por titulación con NaOH 0,1 N hasta viraje del indicador fenolftaleína, el pH se midió con un potenciómetro de mesa marca Benchtop IQ-240 [12], la viscosidad con un viscosímetro rotacional marca SELECTA de referencia ST 2010 a temperatura ambiente [13].

C. Estabilización del jugo

El jugo obtenido se estabilizó evaluando tres gomas (Xantan, pectina y CMC) con tres concentraciones diferentes (0%, 0.025% y 0.05%) y relaciones de mezcla diferentes. Se realizó un diseño experimental en arreglo factorial 3^3 utilizando como factores las gomas Xantan, CMC y pectina (Figura 1) y la concentración, tomando como variables de respuesta la viscosidad, el tiempo de separación y la distancia de separación de fases. La evaluación de los datos se realizó mediante el modelo de superficies de respuesta [10].

D. Pasteurización y formulación

El jugo se pasteurizó durante 15 segundos a 85°C y luego se sometió a enfriamiento y posteriormente se introdujo en bolsas con cierre hermético para ser llevado al congelador [14].

El Calcio se adicionó en un 20% del valor diario recomendado para adultos que es de 1000 mg (NTC 5839 y resolución 333/2011 Minsalud) como Lactato de Calcio, ya que el ion lactato ha sido reportado como el mejor vehículo transportador de Calcio en matrices acuosas, como lo son los jugos de frutas [15], [16], y [17]. La vitamina C se adicionó como ácido ascórbico anhidro en un 20% del valor diario recomendado que para el caso es de 90 mg. (NTC 5839 y resolución 333/2011 Minsalud)

E. Incorporación del microorganismo y determinación de la concentración de unidades formadoras de colonia

La cepa de *L. casei* se reactivó por rehidratación en caldo MRS incubado a una temperatura de 37°C durante 48 horas en condiciones de microaerofilia en una campana de anaerobiosis. La cepa activada se incorporó en esferas de cerámica (CRIOBANK) según instrucciones del fabricante para garantizar su conservación.

La determinación de las unidades formadoras de colonia se realizó teniendo en cuenta la escala Mc- Farland para ser comparado por turbidimetría con los tubos que poseen el caldo con el microorganismo y se determinó la concentración de unidades formadoras de colonia inoculadas en el jugo [6].

Se toma la cepa de acuerdo con el tubo Mc- Farland después de haber sometido a centrifugación a 1000 rpm el microorganismo contenido en el caldo MRS y se inocula en el jugo de naranja.

F. Caracterización fisicoquímica del producto final

Los productos obtenidos se evaluaron durante 20 días para determinar la evolución de la viscosidad, pH y UFC/mL [10].

Todos los datos fueron analizados en software sthgraphics XVI centurión.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. Caracterización inicial del jugo

TABLA I. DATOS DE LA CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DEL JUGO RECIENTE EXPRIMIDO.

Parámetro	Jugo extraído	Jugo comercial	VDR*
Color	L: 51,9 ± 2,2 a: 5,0 ± 0,9 b: 48,7 ± 1,9	L: 54,3 ± 2,4 a: 2,8 ± 1,1 b: 56,4 ± 6,5	
Viscosidad	2,8 cP ± 0,7	5,4 cP ± 0,8	
Ph	3,48 ± 0,26	4,21 ± 0,18	
Acidez	0,98 ± 0,2% (Ácido cítrico)	0,48 ± 0,2% (Ácido cítrico)	
Sólidos Solubles	9,2 % ± 0,6	9,8 % ± 0,5	
Vitamina C	(47,8 mg ± 1,9) /100 g	(34,8 mg ± 1,6) /100 g	60-90 mg
Calcio	(41,1 mg ± 1,8) /100 g	(30,5 mg ± 2,3) /100 g	1000 mg

*Valor Diario Recomendado para un adulto promedio según resolución 333/2011 Ministerio de Protección Social.

En la evaluación del color se observa, en todos los parámetros una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$), esto debido a que el jugo comercial ha sido sometido a tratamientos térmicos de pasteurización, además se la han adicionado colorantes artificiales que ayudan a estabilizar el color del producto final. Resultados similares han sido reportados anteriormente [18], al comparar cambios de color en jugos sin procesar con jugos tratados con pulsos eléctricos de alta intensidad y pasteurizados térmicamente. En estudios anteriores [19] se determinó un cambio en el parámetro L por tratamientos a altas presiones obteniendo valores de 14.48 ± 0.58 y 14.73 ± 0.11 para jugos sin procesar. En un estudio realizado en el 2003 [20] también se reportaron valores de L de 40.22 a 41.22 para jugo de naranja pasteurizado. En el 2007 [21] se reportaron valores de L 62.2; a 5.19 y b 56.9 para jugos de naranja tratados con ultrasonido.

La viscosidad, la acidez y los sólidos solubles concuerdan con los datos reportados por [22] medidos en jugos de naranja tratados a altas presiones, [13] para jugos sin procesar y [23] medidos en jugos de naranja concentrado reconstituido.

B. Estabilización del jugo

En la figura 1, se observa cómo varían los jugos #1 al #27, desde el día 0 hasta el día 12.



a) Jugos a tiempo cero de almacenamiento.



b) Jugos a 15 días de almacenamiento.

Fig. 1. Los jugos de las figuras a) son formulaciones de jugos en tiempo cero, con respecto a las figuras b) son formulaciones de jugos después de 12 días almacenados en el refrigerador a 10 °C.

1) Evaluación de viscosidad

En la iteración realizada sobre la ecuación polinómica generada en la evaluación de la viscosidad con los 3 tipos de goma, se concluyó que para obtener una viscosidad cercana a la del jugo comercial se necesita adicionar 0.02 % de pectina, 0.015 % de carboximetilcelulosa (CMC) y 0.014 % de goma xantán. El resultado de viscosidad simulado sería de 5.17 cP. Este resultado es similar al reportado por [20], [23], [24] y [25]. En una investigación anterior [20] se demostró en su trabajo que la combinación de gomas tiene mejor efecto en cuanto a la estabilización de bebidas, evaluaron la mezcla de goma xantán, carboximetilcelulosa y dextrina en jugo de naranja, obteniendo viscosidades de hasta 0.2 Pa*s.

También [26] obtuvieron resultados similares al evaluar en su trabajo goma xantán al 0.2% sobre jugo de naranja, obteniendo viscosidades máximas de hasta 0.46 Pa*s

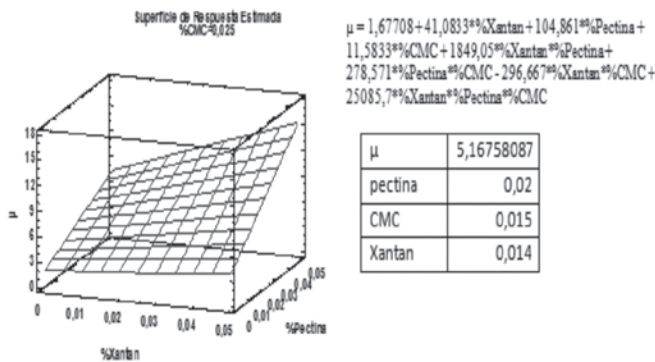


Fig. 2. Superficie de respuesta estimada para viscosidad.

2) Evaluación de color

En la evaluación de color se tuvo en cuenta el cambio de color global del jugo calculado mediante el ΔE , tomando como parámetros de referencia el color del jugo comercial. Por tanto, la iteración se realizó con el fin de obtener un cercano a cero.

Los resultados de la iteración mostraron que el mínimo ΔE (1.67) que se puede obtener con los porcentajes de las gomas permitidos por la norma son de 0.05% de pectina; 0.05% de carboximetilcelulosa y 0% de xantán. Otros autores han evaluado los cambios de color durante el procesamiento por estabilización con emulsificantes, tratamientos térmicos, por ultrasonido o a altas presiones de jugo de naranja obtenido por extracción directa del fruto [25], [27], [11], [28].

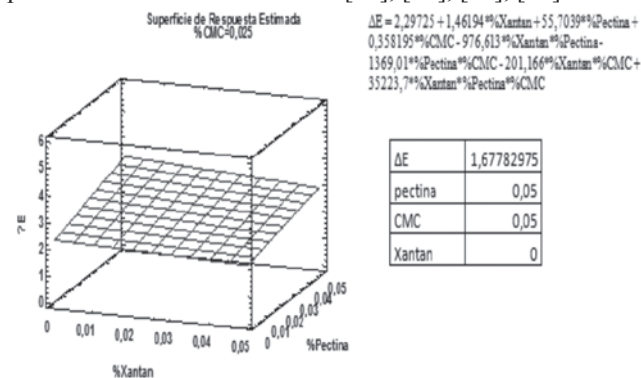


Fig. 3. Superficie de respuesta estimada para el cambio de color.

3) Evaluación de distancia de separación de fases

La adición de las gomas, como en este caso, la goma xantán, pectina y carboximetilcelulosa (CMC), permite la interacción fisicoquímica entre la fase continua, la cual se conforma de agua, azúcares y ácidos orgánicos con la fase dispersa, disminuyendo la distancia entre éstas y a su vez el aumento de la viscosidad, con lo cual ayuda a aumentar el tiempo de vida útil del producto y la aceptabilidad sensorial por parte del consumidor, ya que el jugo cambia la forma de fluir y por tanto el consumidor no lo va a asociar solamente con agua, sino con un jugo rico en sólidos y demás componentes propios de la naranja [29], [24], [27], y [20].

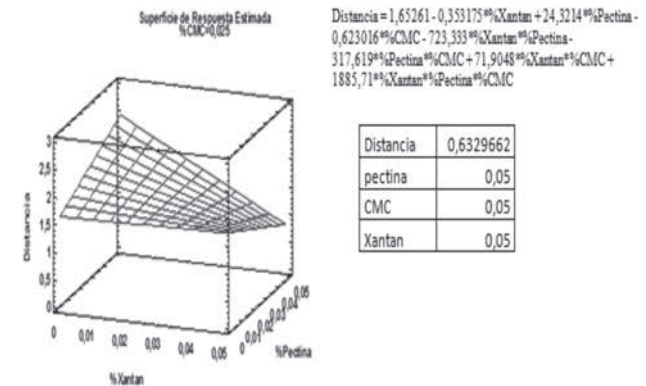


Fig. 4. Superficie de respuesta estimada para distancia de separación de fases.

La iteración en el polinomio obtenido para lograr la mínima distancia de separación de fases teniendo en cuenta la reglamentación nacional en cuanto a la adición de estabilizantes a jugos de fruta, da como resultado la adición de 0.05% de cada una de las gomas utilizadas en este trabajo (Goma Xantán, Carboximetilcelulosa y Pectina).

Estas 3 formulaciones seleccionadas mediante iteración en las 3 ecuaciones obtenidas fueron evaluadas posteriormente con la adición del microorganismo y durante 12 días.

Las formulaciones se resumen en la tabla 2.

TABLA II. FORMULACIONES SELECCIONADAS PARA ADICIÓN DEL MICROORGANISMO

Formulación	Estabilizante (%)		
	Xantán	Pectina	CMC
1	0.014	0.02	0.015
2	0	0.05	0.05
3	0.05	0.05	0.05

C. Análisis microbiológico inicial para el jugo de naranja estabilizado

El análisis de la carga microbiana del jugo reportó una baja cantidad de microorganismos mesófilos que en promedio es de 800 UFC/ml \pm 18,475 y coliformes totales 3 NMP. Estos valores según el decreto 7992 de 1991 están dentro de los parámetros exigidos para un alimento de buena calidad, esto quiere decir que la técnica empleada en la pasteurización fue eficaz y cumplió con el objetivo previsto.

TABLA III. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DEL JUGO DE NARANJA ESTABILIZADO CON GOMAS.

Análisis (Dilución 10 ⁻¹)	Formulación		
	1	2	3
Mesófilos aerobios (UFC/mL)	800	700	900
Coliformes totales (NMP/g)	3	4	3

D. Formulación final.

Las 3 formulaciones iniciales se ajustaron con el fin de seguir los parámetros normativos, adicionar los compuestos fisiológicamente activos en un 20% del valor diario recomendado y mejorar las características sensoriales del jugo. En la siguiente tabla se presentan los ajustes a las formulaciones.

TABLA IV. FORMULACIÓN FINAL DEL JUGO DE NARANJA

Componente (%)	Formulación		
	1	2	3
Extracto de naranja (pulpa)	99,246	99,195	99,145
Goma Xantan (Estabilizante)	0,014	0	0,050
Pectina (Estabilizante)	0,020	0,050	0,050
Carboximetilcelulosa (Estabilizante)	0,015	0,050	0,050
Citrato de sodio (Regulador de acidez)	0,100	0,100	0,100
Sucralosa (Edulcorante no calórico)	0,030	0,030	0,030
Lactato de Calcio	0,310	0,310	0,310
Ácido ascórbico (Vitamina C)	0,005	0,005	0,005
Oligofructosa	0,260	0,260	0,260
Total	100 %	100 %	100 %

El citrato de sodio se adiciona como regulador de acidez con el fin de aumentar el pH hasta 4. Con esto se disminuye la acidez titulable del jugo desde 0.98% hasta 0.5% en ácido cítrico, el cual es el límite permitido por la norma (CODEX STAN 247-2005) y con esto se mantiene un ambiente adecuado para el crecimiento del *L. casei*, a su vez se mejora las características sensoriales del producto. Se seleccionó la sucralosa como edulcorante no calórico debido a que endulza 600 veces más que la sacarosa, sólo el 2 % de la cantidad ingerida es absorbida al torrente sanguíneo y según reportes anteriores [30], [31], [32], [33] y [34] las características sensoriales de los jugos de frutas endulzados con sucralosa no cambian significativamente con respecto a aquellos que fueron endulzados con sacarosa.

E. Adición y recuento del microorganismo probiótico (*Lactobacilos casei*)

Las colonias aisladas en un medio MRS, fueron redondas, blancas, cremosas y pequeñas, este es el crecimiento característico para este lactobacilo en ese medio de acuerdo con [35]. En la figura 5 se observan las cajas con la siembra de cada formulación de los jugos.

F. Caracterización fisicoquímica inicial de las formulaciones

La caracterización de las formulaciones con todos los aditivos en el tiempo cero no mostró diferencias estadísticamente significativas entre ellas, evaluadas por el

método de las mínimas diferencias significativas (LSD) al 95 % de confiabilidad. Encontrando un valor promedio de pH para las 3 formulaciones de 4.0 ± 0.2 , de viscosidad de 5.2 ± 0.3 cP, sólidos solubles 9.0 ± 0.3 % y porcentaje de ácido cítrico de 0.494 ± 0.016 %. Estos datos concuerdan con investigaciones anteriores realizadas por [36], [37] y [38].

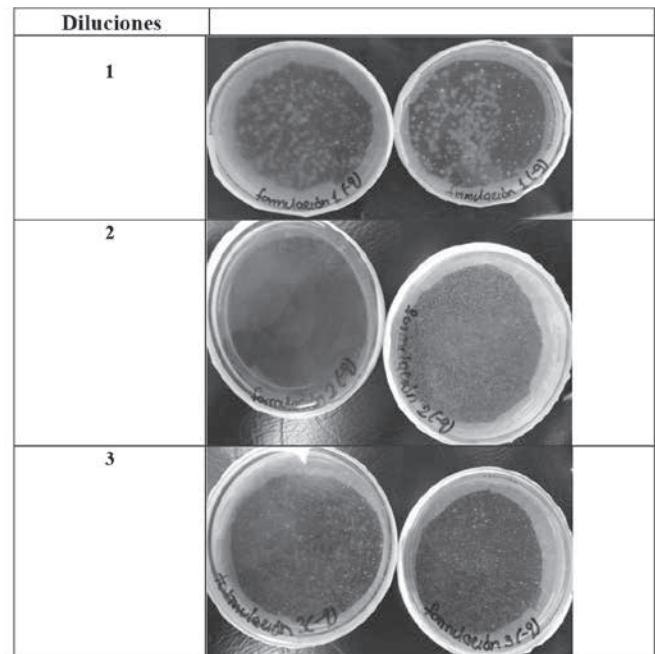


Fig. 5. Diluciones de la formulación 1 del jugo de naranja sembradas en Agar MRS.

En cuanto a los cambios de los parámetros fisicoquímicos con respecto al tiempo, se observa una disminución de pH para las 3 formulaciones debido a la producción inicial de ácido láctico por parte del microorganismo, pero al llegar al día 15 la producción de ácido se estabiliza y por ende el pH no sigue disminuyendo hasta el día 20, en el cual culminó el estudio.

Esta estabilización se da gracias al citrato de sodio agregado como regulador de acidez y al ion lactato adicionado como lactato de calcio, los cuales actúan como amortiguadores con el ácido cítrico propio de la fruta y el ácido láctico producido por la bacteria, impidiendo los cambios drásticos de pH del jugo y con esto ayudando a un aumento de la vida útil del producto. [39], [9], [8] y [30].

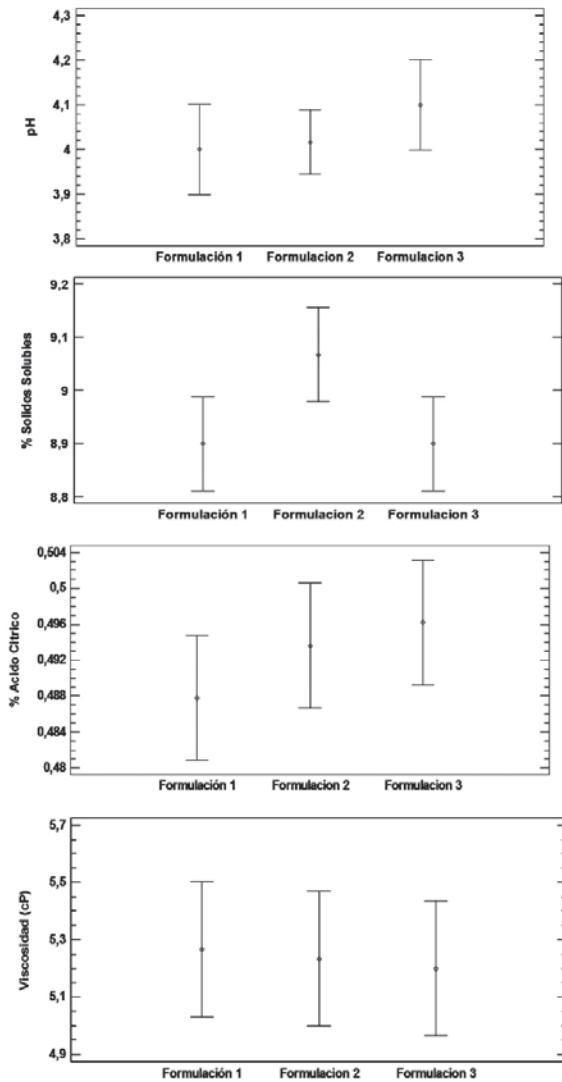


Fig. 5. Caracterización de las formulaciones finales en el tiempo cero.

En cuanto a la viscosidad no se observan cambios estadísticamente significativos a un nivel de confiabilidad del 95% en todos los tiempos de evaluación de la formulación número 1, indicando esto que la relación Pectina 0.02 %, CMC 0.015 % y Xantán 0.014 % fue la mejor para conservar homogéneo el jugo durante el tiempo de evaluación. Otros autores han evaluado mezcla de gomas. [29] Anteriormente se evaluaron mezclas de gomas xantán, goma guar y almidón sobre jugos de naranja, piña y manzana y otros investigadores [20] evaluaron mezclas de goma xantán, goma guar, carboximetilcelulosa y dextrina sobre jugo de manzana, naranja, Coca-Cola, una bebida hidratante y leche entera. Se puede observar también una diferencia estadísticamente significativa al 95 % de confiabilidad en la viscosidad de la formulación 1 después del 5 día de evaluación con respecto a las formulaciones 2 y 3, también después del 5 día de evaluación. Esto corrobora que la mejor mezcla de goma para la estabilización del jugo de fruta es la de la formulación 1.

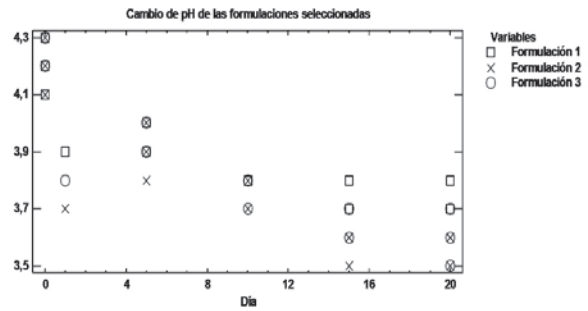


Fig. 6. Comportamiento del pH con respecto al tiempo de almacenamiento a 10 °C

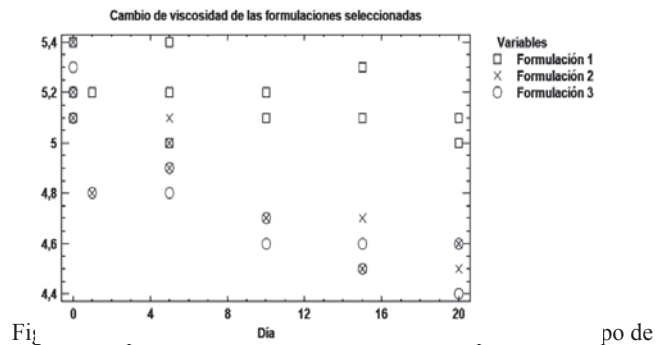


Fig. 7. Comportamiento de la viscosidad con respecto al tiempo de almacenamiento a 10 °C

En las unidades formadoras de colonia se observa un aumento estadísticamente significativo en los 10 primeros días de estudio para las 3 formulaciones. A partir del día 15 hasta el día 20 no se observa un cambio estadísticamente significativo a un nivel de confianza del 95 % evaluado por el método de las mínimas diferencias significativas y a su vez en el test de rango múltiple realizado se observó una homogeneidad del grupo en los días 15 y 20 del estudio, mientras que estos 2 grupos (días 15 y 20) no son homogéneos con respecto a los otros grupos de estudio (días 0, 5, y 10) indicando esto un crecimiento exponencial en los primeros días del microorganismo en jugo y posteriormente un período de estabilidad después del día 15, esto se corrobora también con la producción de ácido láctico, ya que al día 15 se disminuye la producción de éste estabilizando este parámetro en 3.8. Las UFC/mL en promedio para las 3 formulaciones fueron de 7.21×10^9 , valor que concuerda con la resolución 333 del 2011 emitida por el Ministerio de Protección Social, la cual indica que para que un alimento pueda catalogarse como probiótico debe tener entre 10^6 y 10^9 UFC/mL.

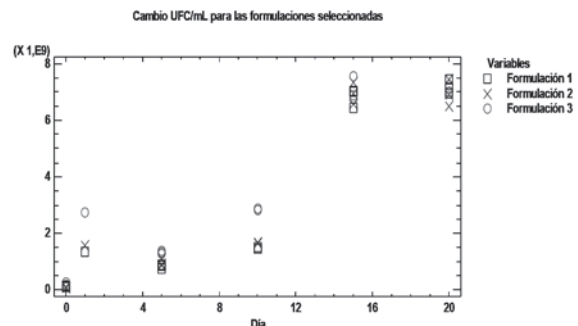


Fig. 8. Comportamiento de las UFC/mL con respecto al tiempo de almacenamiento a 10 °C

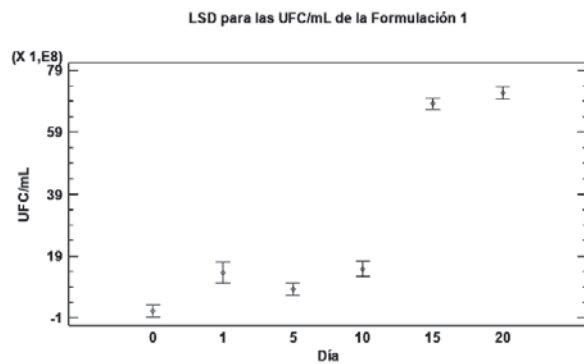


Fig. 9. Comportamiento de la viscosidad evaluada con el método de las mínimas diferencias significativas para la formulación 1

IV. CONCLUSIONES

Para estabilizar el jugo de naranja recién exprimido es necesario adicionar 0.02 % de Pectina, 0.015 % de carboximetilcelulosa y 0.014 % de Xantan. Con estas gomas se asegura una mínima separación de fases y una viscosidad constante de 5,2 cP durante el almacenamiento. La adición del microorganismo probiótico (*Lactobacillus casei*) produce cambios fisicoquímicos en el jugo, especialmente en el pH durante los primeros 10 días, los cuales son contrarrestados con el regulador de acidez adicionado (Citrato de sodio) y con el ion lactato que es adicionado como lactato de calcio, el cual, además cumple la función de compuesto fisiológicamente activo. Entre los días 15 y 20 el pH permanece constante en 3,8. La vitamina C, el Calcio y la oligofruktosa permanecen totalmente solubilizados en el jugo sin producir alteraciones en la viscosidad o pH. El microorganismo crece exponencialmente los primeros 10 días de almacenamiento, posteriormente su concentración permanece constante en $7,21 \cdot 10^9$. Con esto y según la resolución 333 del 2011 del Ministerio de Protección Social de la República de Colombia, el jugo de naranja desarrollado en este trabajo se puede considerar como alimento probiótico.

REFERENCIAS

[1] Ferrari, Carlos K.B. 2007. Functional foods and physical activities in health promotion of aging people, *Maturitas*, 58(4): 327-339.

[2] Assmann, G. P.; Buono, A.; Daniele, E.; Della Valle, E.; Farinero, G.; Ferns, V.; Krogh, D.; Kromhout, L.; Masana, J.; Merino, G.; Misciagna, S.; Panico, G.; Riccardi, A.A.; Rivellesse, F.; Rozza, F.; Salvatore, V.; Salvatore, S.; Stranges, M.; Trevisan, B. y Trimarco, C. 2014. Functional foods and cardiometabolic diseases: International Task Force for Prevention of Cardiometabolic Diseases, *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 24 (12):1272-1300.

[3] Davari, S.; Talaei, S.A y Alaei, M. 2013. Probiotics treatment improves diabetes-induced impairment of synaptic activity and cognitive function: Behavioral and electrophysiological proofs for microbiome-gut-brain axis, *Neuroscience*. 240 (14): 287-296.

[4] Machairas Nikolaos, Aikaterini Pistiki, Dionyssia-Irini Droggiti, Marianna Georgitsi, Nikolaos Pelekanos, Georgia Damoraki, Grigorios Kouraklis, Evangelos J. Giamarellos-Bourboulis. 2015. Pre-treatment with probiotics prolongs survival after experimental infection by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in rodents: An effect on sepsis-induced immunosuppression, *International Journal of Antimicrobial Agents*, Available online.

[5] Serban Daniela Elena. 2014. Gastrointestinal cancers: Influence of gut microbiota, probiotics and prebiotics, *Cancer Letters*. 345(2): 258-270.

[6] Karimi, R. A.M.; Mortazavian, M.; Karami, M. 2012. Incorporation of *Lactobacillus casei* in Iranian ultrafiltered Feta cheese made by partial replacement of NaCl with KCl, *Journal of Dairy Science*. 95(8): 4209-4222.

[7] Chaikham Pittaya, Arunee Apichartsrangkoon, Wachira Jirattananarangsri, Tom Van de Wiele. 2012. Influence of encapsulated probiotics combined with pressurized longan juice on colon microflora and their metabolic activities on the exposure to simulated dynamic gastrointestinal tract, *Food Research International*. 49(1): 133-142.

[8] Awaisheh S.S.; Haddadin, M.S.Y.; Robinson, R.K. 2005. Incorporation of selected nutraceuticals and probiotic bacteria into a fermented milk, *International Dairy Journal*, 15 (11): 1184-1190.

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

[10] Quintero, V. D.; Giraldo G. y Cortes M. 2012. Evaluación de viscosidad y color en la pulpa de mango común (*Mangifera indica* L) tratada enzimáticamente. *Temas agrarios. Facultad de Ciencias*. 17 (2): 66 – 76.

[11] Fernández-Vázquez, R.; Stinco, C. M.; Hernanz, D. J. Heredia F. y Vicario, I. M. 2013. Colour training and colour differences thresholds in orange juice, *Food Quality and Preference*. 30(2): 320-327.

[12] Legua, J.B.; Forner, F.; Hernández, M.A. y Forner-Giner, M. 2013. Physicochemical properties of orange juice from ten rootstocks using multivariate analysis, *Scientia Horticulturae*, 160 (27): 268-273.

[13] Magerramov, M.A.; Abdulagatov, A.I.; Azizov, N.D. y Abdulagatov I.M. 2007. Effect of temperature, concentration, and pressure on the viscosity of pomegranate and pear juice concentrates, *Journal of Food Engineering*. 80(2): 476-489.

[14] Vervoort, L.; Van der Plancken, I.; Grauwet, T.; Rian, A.H.; Timmermans, H. C.; Mastwijk, A. M.; Matser, M. E.; Hendrickx, A. 2011. Comparing equivalent thermal, high pressure and pulsed electric field processes for mild pasteurization of orange juice: Part II: Impact on specific chemical and biochemical quality parameters, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 12(4): 466-477.

[15] Abd-Elhady M. 2014. Effect of citric acid, calcium lactate and low temperature prefreezing treatment on the quality of frozen strawberry, *Annals of Agricultural Sciences*. 59(1): 69-75.

[16] Moraga M.J.; Moraga, G. Fito, P.J.; Martínez-Navarrete, N. 2009. Effect of vacuum impregnation with calcium lactate on the osmotic dehydration kinetics and quality of osmodehydrated grapefruit, *Journal of Food Engineering*. 90(3): 372-379.

[17] Gómez-López V.M.; Orsolani, L.; Martínez-Yépez, A.; Tapia, M.S. 2010. Microbiological and sensory quality of sonicated calcium-added orange juice, *LWT - Food Science and Technology*. 43(5): 808-813.

[18] Cortés, C.; Esteve, M. J. y Frígola, A. 2008. Color of orange juice treated by High Intensity Pulsed Electric Fields during refrigerated storage and comparison with pasteurized juice, *Food Control*. 19(2): 151-158.

[19] Hartyáni P.; István D.; Zsuzsanna C.; Dávid-Balázs K.; Tóth-Markus M. y Sass-Kiss, A. 2011. Physical-chemical and sensory properties of pulsed electric field and high hydrostatic pressure treated citrus juices, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 12(3): 255-260.

[20] Hyun M. y Byoungseung Y. 2015. Rheological Characteristics of Cold Thickened Beverages Containing Xanthan Gum-Based Food Thickeners Used for Dysphagia Diets, *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*. 115(1): 106-111.

[21] Tiwari, B.K.; O' Donnell, C.P.; Muthukumarappan, K. y Cullen, P.J. 2009. Ascorbic acid degradation kinetics of sonicated orange juice during storage and comparison with thermally pasteurised juice, *LWT - Food Science and Technology*. 42(3): 700-704.

[22] Guignon B.; Cristina A.; Sanz, P. y Otero L. 2012. Orange juice pVT-properties for high-pressure processing and modeling purposes: Importance of soluble solids concentration, *Food Research International*. 46(1): 83-91.

- [23] Soares Leite T. P.; Augusto, E.D. y Cristianini, M. 2014. The use of high pressure homogenization (HPH) to reduce consistency of concentrated orange juice (COJ), *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 26: 124-133.
- [24] Croak S. y Corredig, M. 2006. The role of pectin in orange juice stabilization: Effect of pectin methylesterase and pectinase activity on the size of cloud particles, *Food Hydrocolloids*. 20(7): 961-965.
- [25] Mirhosseini H.; Chin P. T.; Nazimah S.A.; Hamid, S.; Yusof, B. y Huey C. 2009. Characterization of the influence of main emulsion components on the physicochemical properties of orange beverage emulsion using response surface methodology, *Food Hydrocolloids*. 23(2): 271-280.
- [26] Paquet É.; Raza H.; Laurent F.; Makhlof, J.; Lemieux, S.; Turgeon, S. 2014. Effect of processing treatments and storage conditions on stability of fruit juice based beverages enriched with dietary fibers alone and in mixture with xanthan gum, *LWT - Food Science and Technology*. 55(1): 131-138.
- [27] Remini H.; Mertz, C.; Belbahi, A.; Achir, N.; Dornier, M.; Madani, K. 2015. Degradation kinetic modelling of ascorbic acid and colour intensity in pasteurised blood orange juice during storage, *Food Chemistry*. 173: 665-673.
- [28] Meléndez-Martínez A.J.; Gómez-Robledo L.; Melgosa, M.; Vicario, I.M. Heredia, F.J. 2011. Color of orange juices in relation to their carotenoid contents as assessed from different spectroscopic data, *Journal of Food Composition and Analysis*. 24(6): 837-844.
- [29] Sopade P.A., Halley, P.J. Cichero, J.A.Y. Ward, L.C. Liu, J. Varlivi, S. 2008. Rheological characterization of food thickeners marketed in Australia in various media for the management of dysphagia. III. Fruit juice as a dispersing medium, *Journal of Food Engineering*. 86(4): 604-615.
- [30] Colombo Pimentel T.; Scaramal M.; Prudencio, S. 2014. Probiotic clarified apple juice with oligofructose or sucralose as sugar substitutes: Sensory profile and acceptability, *LWT - Food Science and Technology*, Available online.
- [31] Furtado de Oliveira R. y Bolini H. 2014. Different sweeteners in passion fruit juice: Ideal and equivalent sweetness, *LWT - Food Science and Technology*, Available online.
- [32] Brown A. W.; Bohan B.; Onken, K.; Beitz, D. 2011. Short-term consumption of sucralose, a nonnutritive sweetener, is similar to water with regard to select markers of hunger signaling and short-term glucose homeostasis in women, *Nutrition Research*. 31(12): 882-888.
- [33] Ferrer I. y Thurman, M. 2010. Analysis of sucralose and other sweeteners in water and beverage samples by liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*. 1217(25): 4127-4134.
- [34] Basu S.; Shivhare, U.S.; Singh, T.V. 2013. Effect of substitution of stevioside and sucralose on rheological, spectral, color and microstructural characteristics of mango jam, *Journal of Food Engineering*. 114(4): 465-476.
- [35] Yuki N.; Koichi W.; Akito.; Yoko.; Ryuichiro T.; Makoto O.; Masami M. 1999. Survival of a probiotic, *Lactobacillus casei* strain Shirota, in the gastrointestinal tract: Selective isolation from faeces and identification using monoclonal antibodies, *International Journal of Food Microbiology*. 48(1): 51-57.
- [36] Carbonell J.V.; Tárrega, A.; Gurrea, M.C.; Sentandreu, E. 2011. Chilled orange juices stabilized by centrifugation and differential heat treatments applied to low pulp and pulpy fractions, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 12(3): 315-319.
- [37] Martínez P.; Martín-Belloso, O. 2007. Effects of high intensity pulsed electric field processing conditions on vitamin C and antioxidant capacity of orange juice and gazpacho, a cold vegetable soup, *Food Chemistry*. 102(1): 201-209.
- [38] Martín-Diana A. B.; Rico, D.; Barat, J.M.; Barry-Ryan, C. 2009. Orange juices enriched with chitosan: Optimisation for extending the shelf-life, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 10(4): 590-600.
- [39] Tahiri I.; Makhlof, J.; Paquin, P. y Fliss, I. 2006. Inactivation of food spoilage bacteria and *Escherichia coli* O157:H7 in phosphate buffer and orange juice using dynamic high pressure, *Food Research International*. 39(1): 98-105.

Juan Carlos Lucas Aguirre es Ingeniero Agroindustrial, Magister en Ingeniería de alimentos y candidato a doctor en ciencia agrarias de la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, es Profesor-Investigador de carrera del programa de Ingeniería de alimentos de la Universidad del Quindío.

Victor Dumar Quintero Castaño es Químico, Magister en Química de alimentos, es Profesor-Investigador de carrera del programa de Ingeniería de alimentos y Coordinador de la Maestría en Procesos Agroindustriales de la Universidad del Quindío.

María Cecilia Londoño Castaño es química de la Universidad del Quindío, egresada en año 2014. Se ha desempeñado como auxiliar de investigación en proyectos ejecutados por el grupo de investigación de agroindustria de frutas tropicales de la Universidad del Quindío durante los años 2012 y 2013.