

Frutos de Uchuva (*Physalis peruviana* L.) Ecotipo 'Colombia' Mínimamente Procesados, Adicionados con Microorganismos Probióticos Utilizando la Ingeniería de Matrices

Minimally Processed Cape Gooseberry Fruits (*Physalis peruviana* L.) 'Colombian' Ecotype, Added with Probiotic Microorganisms Using the Matrix Engineering

Zaira Tatiana Marin Arango¹; Misael Cortes Rodríguez² y Olga Inés Montoya Campuzano³

Resumen. El consumo de alimentos con microorganismos probióticos se ha incrementado en los últimos años debido a los beneficios saludables que estos proporcionan. El desarrollo de nuevos alimentos con probióticos diferentes a los productos lácteos, representa un reto para los investigadores y la industria. El presente estudio desarrolló a nivel piloto frutos de uchuva (*Physalis peruviana* L.) mínimamente procesados con microorganismos probióticos, combinando el efecto benéfico de la cepa comercial *Lactobacillus casei* ATCC 393 con la aplicación de la Ingeniería de Matrices como metodología de obtención de alimentos funcionales. Se utiliza como líquido de impregnación una solución de glucosa al 14% p/p, con concentración inicial de inóculo de 5 en la escala de McFarland ($1,5 \times 10^9$ UFC/mL). Las uchuvas recién impregnadas alcanzaron conteos de células viables de $1,95 \pm 0,28 \times 10^9$ UFC/100 g de uchuva fresca ($9,28 \pm 0,06 \times 10^9$ ciclos log UFC/100 g uchuva fresca) y a los 15 días de almacenamiento a 4 °C los conteos de células viables fueron de $2,20 \pm 0,59 \times 10^9$ UFC/100 g de uchuva fresca. ($9,32 \pm 0,14 \times 10^9$ ciclos log UFC/100 g uchuva fresca). Estos niveles de concentración de microorganismos probióticos en la uchuva son similares a los encontrados en los productos lácteos, como el yogurt, helados, quesos, entre otros.

Palabras claves: Alimentos funcionales, probióticos, *Lactobacillus casei*, uchuva, impregnación a vacío.

Abstract. Food consumption with probiotic microorganisms has been increased in the last years due to its healthy benefits that they provide. The development of new food with probiotics apart from dairy products represents a challenge for both researchers and industry. The present study developed at pilot level cape gooseberry fruits (*Physalis peruviana* L.) minimally processed with microorganisms probiotics, combining the beneficent effect of the strain commercial *Lactobacillus casei* ATCC 393 with the application of the matrix Engineering as methodology to obtain functional foods. As liquid of impregnation a solution of glucose at 14% p/p was used, with an initial concentration of inoculum of 5 in McFarland scale (1.5×10^9 UFC/mL). The newly impregnated cape gooseberry reached counts of viable cells of $1.95 \pm 0.28 \times 10^9$ UFC/100 g of fresh cape gooseberry ($9.28 \pm 0.06 \times 10^9$ cycles log UFC/100 g fresh cape gooseberry) and after 15 days of storage at 4 °C counts of viable cells were of $2.20 \pm 0.59 \times 10^9$ UFC/100 g of fresh cape gooseberry ($9.32 \pm 0.14 \times 10^9$ cycles log UFC/100g fresh cape gooseberry). These level of probiotic microorganisms concentration in the cape gooseberry, were similar to those found in the dairy products as the yogurt, ice creams, cheeses, among others.

Key words: Functional foods, probiotics, cape gooseberry, *Lactobacillus casei*, vacuum impregnation.

El incremento en los últimos años del consumo de alimentos con microorganismos probióticos ha marcado el desarrollo de nuevos alimentos que proporcionen beneficios adicionales en la salud de los consumidores; estos productos se encuentran dentro de la gama de los alimentos funcionales (AF), definidos como alimentos que contienen algún (os) componente (es) que promueve la salud más allá de los nutrientes tradicionales. Algunos términos relacionados con los alimentos funcionales son: alimentos diseñados, medicinales, nutracéuticos, terapéuticos, superalimentos, foodiceuticals y

medifoods (Prado *et al.*, 2008; Rakin *et al.*, 2007; Michida *et al.*, 2006; Cortés, 2004; Roberfroid, 2000; Shah, 2001). En general, el término hace referencia a un alimento que ha sido modificado en alguna forma para volverse "funcional" (Shah, 2007); lo que representa un importante avance en la relación de los consumidores, legisladores y la industria alimenticia.

La uchuva (*Physalis peruviana* L.) es una baya jugosa y carnosa, de color amarillo-naranja cuando está maduro, con altos niveles de minerales Fe y P, vitaminas A, C y fibra (Fischer, 2000; Osorio y Roldan, 2004),

¹ Ingeniera de Alimentos. Estudiante de la Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. A.A. 1779. Medellín, Colombia. <ztmarina@unal.edu.co>

² Profesor Asociado. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. Departamento de Ingeniería Agrícola y de Alimentos. A.A. 1779. Medellín, Colombia. <mcortesro@unal.edu.co>

³ Profesora Asociada. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. Escuela de Biociencias. A.A. 3840. Medellín, Colombia. <oimontoy@unal.edu.co>

Recibido: Marzo 3 de 2009; Aceptado: Marzo 11 de 2010

Rev. Fac. Nac. Agron. Medellín 63(1): 5395-5407. 2010

se desarrolla dentro de un cáliz gamosépalo globoso acrescente que cubre el fruto. La uchuva ecotipo Colombia, es considerada como un fruto promisorio de exportación y se caracteriza por tener una mejor coloración y un mayor contenido de azúcares, lo que la hace uno de los frutos más apetecidos en los mercados internacionales (Rodríguez y Bueno, 2006; Ávila *et al.*, 2006). La uchuva, es ampliamente utilizada en el tratamiento de enfermedades como malaria, asma, hepatitis, dermatitis, reumatismo y como diurético (Wu *et al.*, 2004a, 2004b); su gran contenido en flavonoides y compuestos polifenólicos la hacen poseedora de propiedades antiinflamatorias y antioxidantes (Wu *et al.*, 2005, 2006).

La Ingeniería de Alimentos utiliza la Ingeniería de Matrices (IM) como metodología de obtención de AF, teniendo como fundamento el conocimiento sobre composición, estructura y propiedades de alimentos porosos, para producir y controlar cambios o mejoras en el alimento final (Chiralt *et al.*, 1999). La IM utiliza la técnica de impregnación al vacío (IV) para incorporar componentes fisiológicamente activos (CFA) a través del mecanismo hidrodinámico (MHD), el cual permite transferir masa en sólidos porosos, provocando cambios en las propiedades mecánicas, ópticas, térmicas y estructurales de los alimentos y afectando la calidad sensorial del producto final. (Betoret *et al.*, 2003, Cháfer *et al.*, 2003, Grass *et al.*, 2003, Fito *et al.*, 2001a, 2001b, Chiralt *et al.*, 2001; Fito y Chiralt, 2000; Martínez *et al.*, 2000; Chiralt *et al.*, 1999; Tapia *et al.*, 1999; Martínez, 1998; Muntada *et al.*, 1998).

El proceso IV depende de muchos factores como: composición, tamaño y distribución de los poros, velocidad de flujo aire y solución isotónica (SI) durante la acción del MHD, viscosidad de la SI, tamaño y forma del alimento (Chiralt *et al.*, 1999), además de la heterogeneidad en la microestructura de la superficie del fruto. La uchuva fresca (UF) presenta en su superficie una película cérea y un pedúnculo (95 y 5% del área respectivamente), siendo la primera muy impermeable y la segunda presenta características porosas en el área del pedúnculo (punto de ruptura del capacho que la protege durante la cosecha y poscosecha). Esta última condición, hace de esta matriz alimentaria viable para los procesos IV.

Numerosos beneficios en la salud han sido observados en los microorganismos probióticos, entre ellos se encuentran la actividad antimicrobiana,

propiedades antimutagénicas y anticarcinogénicas, reducción del colesterol, propiedades antidiarreicas, estimulación del sistema inmune, mejoramiento en el metabolismo de la lactosa, mejora la inflamación en las enfermedades del intestino, la biodisponibilidad de minerales y oligoelementos y la supresión de la infección por *Helicobacter pylori* (Shah, 2007; Jenkins *et al.*, 2005; Fasoli *et al.*, 2003; Bomba *et al.*, 2002; Hammes y Hertel, 2002; Holzapfel y Schillinger, 2002; Puupponen-Pimiä *et al.*, 2002; Salmínen y Von Wright, 1998). Los microorganismos probióticos se pueden encontrar en lácteos, carnes, verduras, vinos y liofilizados; deben permanecer viables en el producto alimenticio, ser genéticamente estables, ser capaces de alcanzar el intestino humano y al llegar a este, multiplicarse sin producir daños al huésped (Collado *et al.*, 2007; Betoret *et al.*, 2003; Tuhoj *et al.*, 2003; Charalampopoulos *et al.*, 2002; Reuter *et al.*, 2002; Zubillaga *et al.*, 2001).

Esta investigación tuvo como objetivo desarrollar un producto mínimamente procesado a partir de frutos de uchuva inoculados con la cepa *Lactobacillus casei*, utilizando la IM como metodología de obtención de AF.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia prima. Se utilizaron frutos de uchuva (*Physalis peruviana* L.) ecotipo Colombia, con pesos entre 6 y 7 g, procedentes del municipio de la Unión (Antioquia, Colombia), las cuales se desinfectaron con una solución de 100 ppm de hipoclorito de sodio.

Microorganismo y medio de cultivo. Se utilizó la cepa comercial *Lactobacillus casei* ATCC 393 de la casa comercial MDM (Medellín), la cual se activó en caldo y agar Man Rogosa Sharpe (MRS) a 37 °C, durante 72 h, bajo condiciones microaerófilas.

Propiedades fisicoquímicas. Se realizaron pruebas de acidez por titulación con NaOH 0,1N, utilizando como indicador fenolftaleína (AOAC 942.15, 1996), de pH con un potenciómetro Schott CG840B (AOAC 981.12, 1990), sólidos solubles con un refractómetro Leica auto ABBE (escala 0-32 °Brix) (AOAC 932.12, 1996), contenido de humedad (AOAC 7.003-84 y 930.15-90 adaptado, C 934.06, 1996), actividad de agua (a_w) con un higrómetro de punto de rocío a 25 °C AquaLAB Decagon serie 3TE (AOAC 978.18M, 1996), densidad aparente (masa de la muestra y volumen desplazado) y la densidad del líquido de impregnación

por el método del picnómetro a 20 °C (AOAC 945.06, 1990). La valoración de las propiedades fisicoquímicas para las uchuvas frescas (UF) se realizó en tres lotes de 30 muestras/lote y las impregnadas de 30 muestras/condición de almacenamiento.

Solución de impregnación. Se utilizó una solución isotónica de glucosa (SI) de igual a_w que la UF, correspondiente a una concentración del 14% p/p. La SI fue inoculada con el microorganismo en concentraciones de McFarland de 0,5 ($1,5 \times 10^8$ bacterias/mL) y 5 ($1,5 \times 10^9$ bacterias/mL), con absorbancias de 0,189 y 1,307 medidas por espectrofotometría a 560 nm respectivamente, en un Spectronic 20 Genesys.

Proceso de impregnación a vacío (IV). Las UF fueron impregnadas en una cámara de impregnación diseñada en la Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, aplicando en la primera etapa una presión de vacío de 20 kpa (5,9"Hg) durante 5 min y en la segunda etapa se restableció la presión atmosférica manteniéndolas sumergidas por 5 min más. Durante el proceso IV se evaluó la evolución de la masa de las muestras y de la SI, lo que permitió determinar los parámetros de impregnación en cada etapa: fracción volumétrica de impregnación (m^3 SI/ m^3 UF) al final de la etapa de vacío (X_1) y al final del proceso (X), la deformación volumétrica al final de la etapa de vacío (γ_1) y al final del proceso (γ) y la porosidad efectiva (ϵ_e) disponible para el proceso IV. La metodología y el cálculo de los parámetros de impregnación, han sido descritos según el modelo matemático de algunos autores (Cortés *et al.*, 2007; Cortés, 2004; Salvatori *et al.*, 1998; Fito, 1994; Fito y Pastor, 1994). Los parámetros de impregnación se determinaron a partir de 25 repeticiones por SI.

Recuento en placa. Cada fruto de uchuva impregnado (UI) fue homogeneizado con peptona universal (0,1% p/v) en proporción 1:9, luego se realizó el método de siembra en profundidad en agar MRS, las cajas se incubaron a 37 °C, por 72 h en condiciones de anaerobiosis (Madigan *et al.*, 2004). Los conteos de células viables se realizaron como UFC/100 g UF y los resultados se expresaron en unidades logarítmicas (Log UFC/100 g UF).

Almacenamiento. Las UI se almacenaron a 4 °C durante los tiempos de control de 0, 5, 10 y 15 días y envasadas en condiciones atmosféricas en bolsas plásticas con multicapa de poliamida-polietileno

marca ALICO S. A., con barrera al vapor de agua ($<15 \text{ g/m}^2/24 \text{ hr/atm}$, $T=38 \text{ }^\circ\text{C}$), O_2 ($60 \text{ cc/m}^2/24 \text{ h/atm}$, $23 \text{ }^\circ\text{C}$), N_2 y CO_2 . Se evaluaron la evolución de la estabilidad de las UI en cuanto a la población del *L. casei*, los cambios fisicoquímicos, el color y la textura. Se realizaron 20 repeticiones para los conteos del microorganismo y 30 para el resto de parámetros por condición de almacenamiento.

Microscopia. El análisis microestructural se realizó en un microscopio electrónico de barrido (SEM) marca JEOL referencia JSM 5950 LV. Las muestras de los sustratos inoculados, son ubicadas y distribuidas a lo largo de un portaobjeto, luego se secan al ambiente, se recubren con oro y se someten a las condiciones de operación del equipo (25 Pa de vacío y 15 kv de corriente eléctrica). Se tomaron micrografías a diferentes aumentos para identificar los microorganismos en las estructuras de estudio en muestras tomadas al azar.

Color. Se determinó utilizando el espectrocólorímetro X-RITE, modelo SP64, iluminante D65 y el observador de 10° como referencia; las medidas se realizaron con componente especular incluida. A partir de los espectros de reflexión se obtuvieron las coordenadas de color del CIE- $L^*a^*b^*$, donde L^* es un indicador de la luminosidad, a^* (cromaticidad verde (-) a rojo (+)) y b^* (cromaticidad azul (-) a amarillo (+)). Se midieron 30 repeticiones por condición de almacenamiento y para cada muestra se realizaron lecturas en la zona ecuatorial (3), en el entorno del pedúnculo (1) y en el ápice (1).

Textura. Se realizaron ensayos de punción en un analizador de textura TA.XT2 (Stable Micro Systems). Se utilizó un embolo metálico de 5 mm de diámetro a una velocidad de penetración de 4 mm/s, hasta una distancia de 10 mm. La dureza se cuantificó en términos de la fuerza máxima alcanzada con la penetración de la epidermis del fruto (F_{max}), además se determinó la fuerza media lograda en la pulpa del fruto (F_{media}). Se realizaron 30 mediciones por cada tiempo de almacenamiento.

Análisis de datos. Los resultados fueron analizados a partir de ANAVA, utilizando el método LSD (mínimas diferencias significativas) como método de comparaciones múltiples, con un nivel de confianza del 95% ($\alpha=0,05$). El análisis de varianza fue realizado con el paquete estadístico Statgraphics Plus versión 5.1.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se presentan los resultados medios y las desviaciones estándar de los parámetros fisicoquímicos pH, °Brix y acidez de las UF y las UI en los diferentes tiempos de control durante el almacenamiento.

Los valores obtenidos en las UF almacenadas (UFA) presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en todos los parámetros debido al factor tiempo; sin embargo, se observa que los cambios en el pH y la acidez son pequeños sin llegar a

ser correspondientes, lo que podría asociarse principalmente a variaciones propias del fruto durante su proceso de maduración y su posterior disminución de la intensidad respiratoria que hace que el pH aumente (Lanchero *et al.*, 2007) y los °Brix disminuyan. Los valores de humedad, densidad aparente del fruto y la actividad de agua no presentaron diferencias significativas entre lotes, siendo $79,5 \pm 2,8\%$, $1,038 \pm 0,0054 \text{ g/cc}$ y $0,988 \pm 0,002$ respectivamente, mientras que el pH varió entre $3,39 \pm 0,07$ y $3,57 \pm 0,08$; los °Brix entre $14,27 \pm 0,72$ y $13,48 \pm 1,15$ y la acidez entre $2,05 \pm 0,18$ y $2,31 \pm 0,23$.

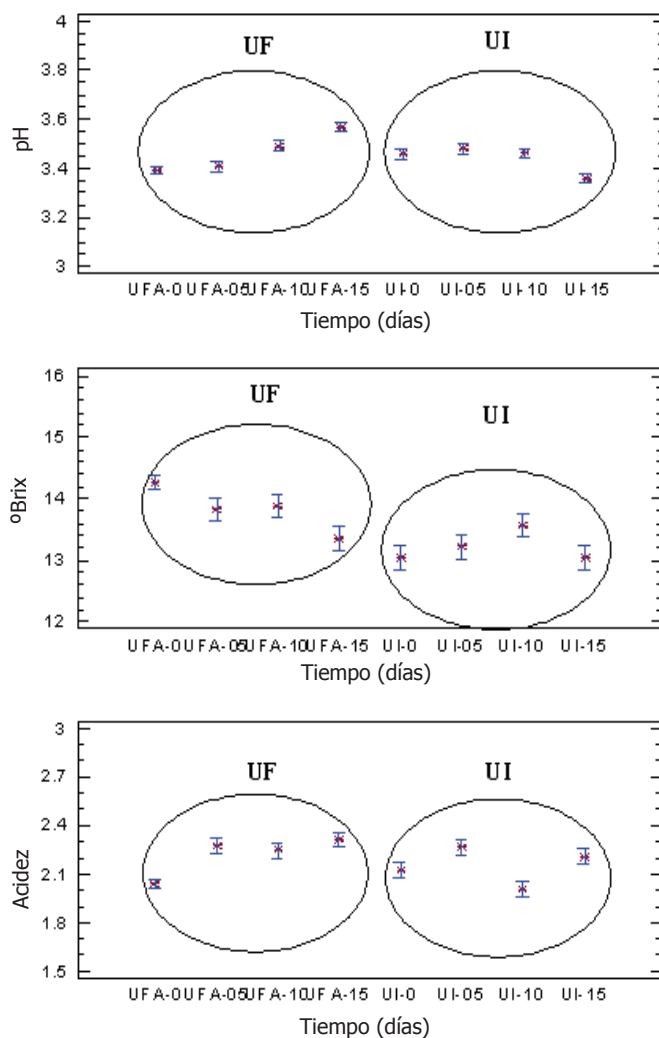


Figura 1. Caracterización fisicoquímica de frutos de uchuva frescos e impregnados.

Estos resultados fueron similares a los encontrados por algunos autores (Restrepo, 2008; Lanchero *et al.*, 2007; Ávila *et al.*, 2006; Nova *et al.*, 2006; Alvarado *et*

al., 2004; Castañeda y Paredes, 2003; Herrera, 2000), lo que permite clasificar el fruto entre "Extra" y I según las normas del CODEX-Alimentarius Commission

(2007) o en la escala 3-4, de acuerdo con la Norma Técnica Colombiana, NTC 4580 (ICONTEC, 1999).

En las UI, los °Brix, el pH y la acidez presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) por efecto del factor proceso IV y el tiempo de almacenamiento. El efecto del proceso IV, es causado por la solución de impregnación incorporada, cuyas propiedades fisicoquímicas (°Brix: $12,85 \pm 0,15$; pH: $3,65 \pm 0,1$; acidez: $0,24 \pm 0,01$), afectan directamente los valores de las UI-0 (disminución de los °Brix de 14,3 a 13 e incrementos en el pH de 3,40 a 3,45 y la acidez de 2,05 a 2,1).

Las UI presentaron bajos rangos de variación con respecto a los tiempos de almacenamiento (pH: 3,45 - 3,35; °Brix: 13 - 12,7; Acidez: 2,12 - 2,25). El pH presenta un sostenimiento hasta el día 10 y luego una disminución al igual que los °Brix y la acidez presenta un incremento por la generación de ácido láctico procedente de los procesos microbianos al consumir los sustratos como fuente de energía (Bustos *et al.*, 2004; Serna y Rodríguez, 2004; Holzapfel y Schillinger, 2002).

La Figura 2 expresa los valores medios y sus desviaciones estándar de los parámetros de

impregnación X , X_1 , γ , γ_1 y ε_e , en muestras recién impregnadas con las SI McFarland 0,5 y 5. El ANAVA no presentó diferencias significativas ($P > 0,05$) para los parámetros X_1 , γ , γ_1 y ε_e , y si hubo diferencias por efecto del factor concentración del microorganismo en la SI. La uchuva para ambas concentraciones presentó valores negativos de X_1 , lo que indica salida de líquido nativo principalmente por el área del pedúnculo desde el interior de la estructura del fruto y esta situación conllevó a valores negativos de γ_1 , produciendo una contracción volumétrica de la muestra durante la etapa de vacío. Por otro lado γ fue muy afectada por el MHD y por la plasticidad de la película externa. Los valores encontrados de ε_e ($\cong 10\%$), denotan la disponibilidad de este fruto para la incorporación de la SI con los microorganismos en su interior. En general, los resultados anteriores reflejan la hipótesis planteada, donde se asume que la transferencia de masa se da principalmente por el área del pedúnculo, sumado a las interacciones combinadas de los diversos factores mencionados anteriormente. Por otro lado, no existe una relación definida entre el peso del fruto y el área del pedúnculo, por lo que se hace complejo el análisis de la respuesta a la IV (Botero, 2009).

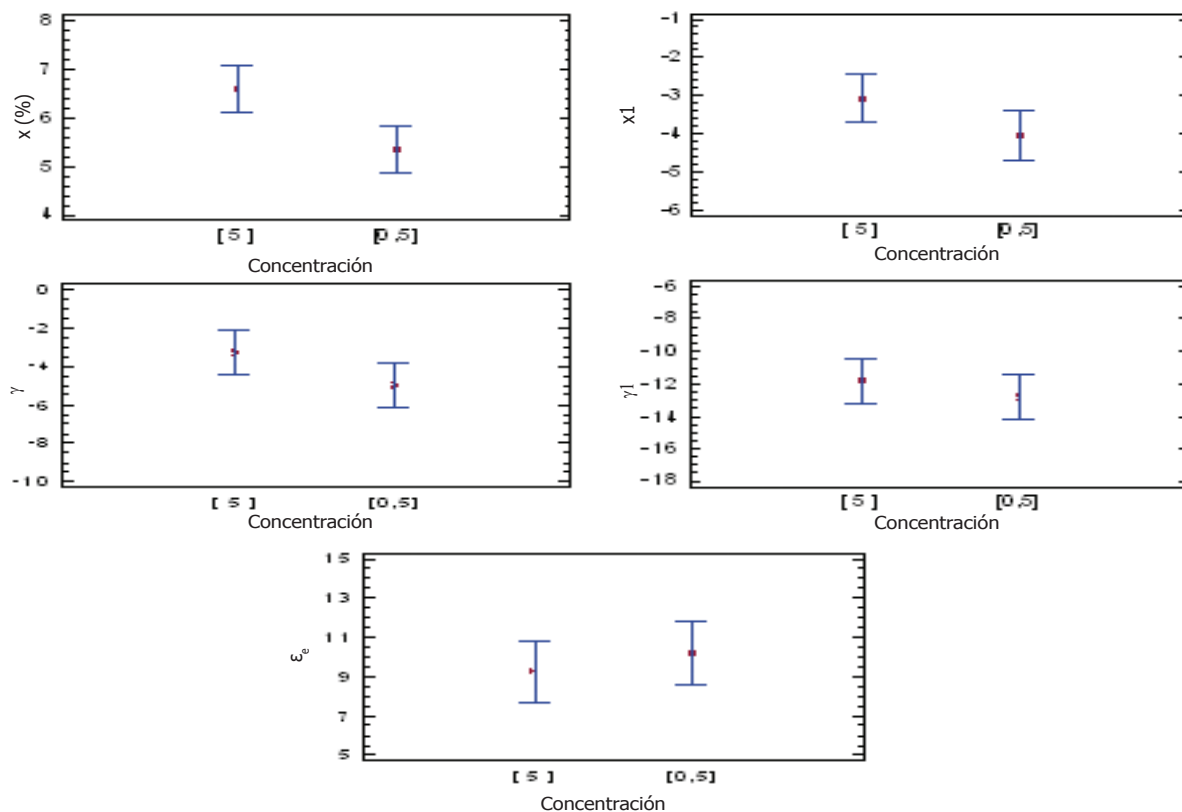


Figura 2. Respuesta a la impregnación al vacío de frutos de uchuva inoculados con *Lactobacillus casei* ATCC 393.

La Figura 3 muestra los valores medios con intervalos LSD (95%) de la población de *L. casei* por 100 g UF durante el almacenamiento, utilizando la solución de impregnación de concentración en la escala McFarland de 5; no se analizan los valores con la concentración en la escala McFarland 0,5 porque fueron menores que 10^6 UFC/100 g UF (Log UFC/100 g UF = 6). El ANAVA mostró diferencias estadísticas significativas con respecto al tiempo ($P < 0,05$), identificándose dos grupos homogéneos, uno conformado por 0 IV, 10 IV y 15 IV y otro por las muestras de 05 IV; esta situación se asocia principalmente a que entre los tiempos 0 IV y 05 IV el microorganismo tiene su fase de adaptación a la matriz en la cual fue incorporado, después de los 5 días los lactobacilos se recuperan y empiezan su proceso de reproducción obteniendo recuentos entre $1,32 -$

$2,25 \times 10^9$ UFC/100 g UF. Los niveles alcanzados en los frutos de uchuva mínimamente procesados a los 15 días fueron de $2,2 \pm 0,6 \times 10^9$ UFC/100 g UF, lo cual es un buen comportamiento del microorganismo en la matriz estructural. En la actualidad existen pocas investigaciones de frutos inoculados con probióticos, algunos autores han ensayado la incorporación de *L. casei* y *Saccharomyces cerevisiae* en manzana, utilizando la misma metodología, alcanzando niveles del orden de $1,7 \times 10^7$ y $2,8 \times 10^9$ UFC/g de fruto fresco respectivamente (Betoret *et al.*, 2003; Puente, 2003). Otros investigadores, han impregnado mango con *L. casei*, alcanzando después de secar a 35°C entre 10^5 y 10^7 UFC/g (Giraldo *et al.*, 2007). En el caso de la uchuva, impregnaciones realizadas con *L. acidophilus* alcanzaron niveles entre $1,2$ y $5,1 \times 10^4$ UFC/g UF (Cueto *et al.*, 2008).

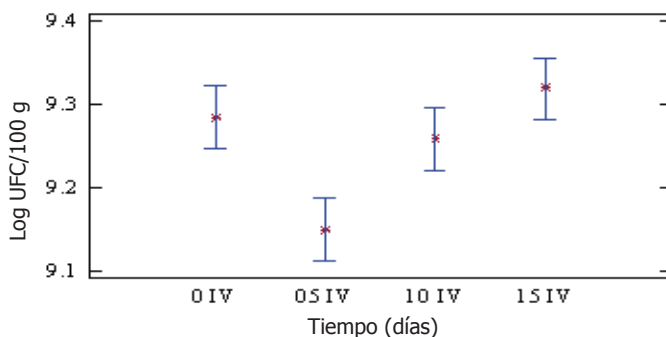


Figura 3. Valores medios con intervalos LSD (95%) de la población de *Lactobacillus casei* /100 g UF durante el almacenamiento de frutos de uchuva a 4°C .

La Figura 4 presenta los valores medios con intervalos LSD (95 %) de los parámetros de color en términos de L^* , a^* , b^* durante el almacenamiento (0, 5, 10, 15 días) para las UF y UI; observándose en todas las zonas, diferencias significativas ($P < 0,05$) por efecto del proceso IV, donde las muestras son más oscuras ($< L^*$), debido a que la presencia de la SI en los espacios intercelulares modifica las propiedades ópticas de la UF.

En todas las zonas, las UF presentan diferencias significativas por efecto del tiempo; se observan 2 grupos homogéneos, uno conformado por las muestras medidas en el pedúnculo y el otro por las zonas ecuatoriales y el ápice. En todos los tiempos, las muestras de la zona del entorno al pedúnculo son más claras ($> L^*$), menos rojizas ($< a^*$) y amarillas ($< b^*$) que las otras zonas; este comportamiento se atribuye por un lado, a la menor concentración de carotenos en el

área del pedúnculo y a los cambios fisiológicos durante el proceso de maduración del fruto.

Las UI presentan diferencias significativas por efecto de los factores impregnación y tiempo, se mantienen los mismos 2 grupos homogéneos que las UF. Las muestras recién impregnadas (UI-0) de la zona del pedúnculo son más oscuras ($< L^*$) que las otras zonas y con el tiempo la zona ecuatorial y el ápice igualan a la zona del pedúnculo; esta situación se atribuye al perfil de presión generado por el MHD, a la impregnación no homogénea en la superficie del fruto y a que la SI se va difundiendo lentamente en el interior hasta alcanzar el equilibrio. Con el paso del tiempo las UI en almacenamiento se presentan más claras ($> L^*$), más rojizas ($> a^*$) y más amarillas ($> b^*$), esta situación se potencia por la SI con microorganismos en la película y en los espacios intercelulares, lo cual mejora los índices de refracción e incrementa

los niveles de absorción de la luz. En comparación, las UI tienden a ser de un tono menos anaranjado que las UF almacenadas a los mismos tiempos.

La Figura 5 presenta los valores medios con intervalos LSD (95 %) de la F_{max} y F_{media} para las UF y UI durante el almacenamiento a 4 °C. Se observa para las UF un comportamiento similar para los parámetros F_{max} y F_{media} , igualmente ocurre con las UI. En las UF, el ANAVA

presentó diferencias significativas en todos los parámetros por efecto del factor tiempo, con un comportamiento creciente durante los primeros 5 días de almacenamiento, donde se considera que el fruto adquirió la madurez óptima. Posteriormente ocurre una disminución de los parámetros, lo cual se asocia a la pérdida de firmeza de las estructuras celulares debido a la acción de las enzimas (pectinasas) que hidrolizan los compuestos de la pared celular del fruto.

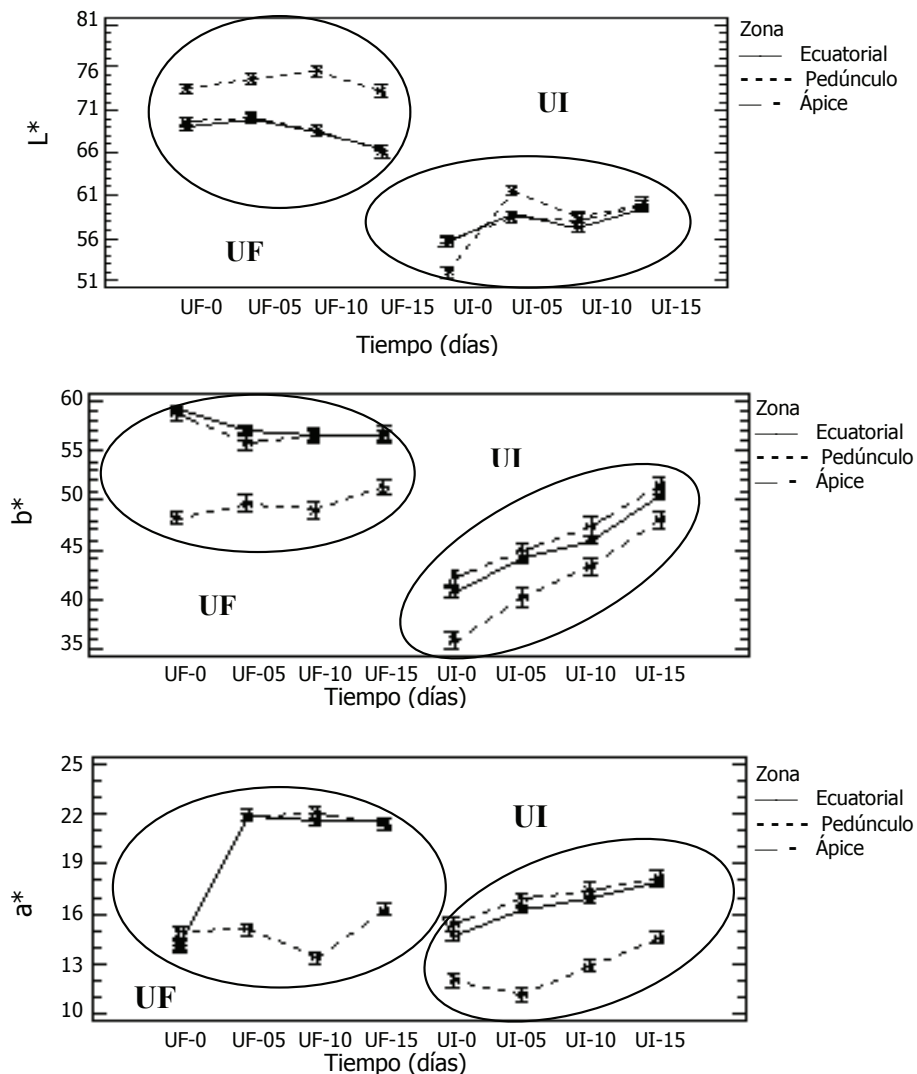


Figura 4. Evolución de los parámetros de color L*, a*, b* en las zonas del entorno al pedúnculo, ecuatorial y ápice de la UF y UI con *Lactobacillus plantarum* durante el almacenamiento de frutos de uchuva a 4 °C.

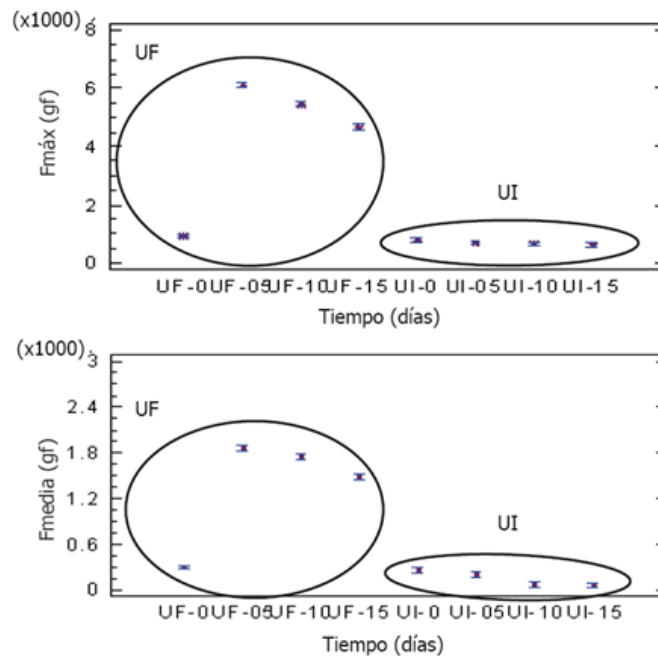


Figura 5. Evolución de F_{\max} y F_{media} en las UF y UI con *Lactobacillus casei* durante el almacenamiento de frutos de uchuva a 4°C.

En las UI, el ANAVA presentó diferencias significativas en ambos parámetros con respecto al factor tiempo. Para la F_{\max} , se identifican 2 grupos homogéneos, el primero conformado por UI-0 y el segundo por UI-05, UI-10 y UI-15. Se considera que los cambios son atribuibles por un lado al estrés mecánico asociado al MHD, además de los cambios fisiológicos de la película cerosa durante el proceso de maduración y del posible desdoblamiento del carbono de la película cerosa como fuente de energía de los microorganismos; sin embargo, se consideran estas variaciones aceptables, con valores mínimos alcanzados a los 15 días de 650 gf. Para la F_{media} se identificaron 3 grupos homogéneos, el primero UI-0, el segundo UI-5 y por último UI-10 y UI-15, siendo los valores menores con respecto al tiempo y alcanzando un nivel promedio al final del almacenamiento de 70 gf aproximadamente. Esta situación se atribuye principalmente al efecto producido por el MDH, donde la diferencia de presión a la cual es sometido el fruto, además de la incorporación de líquidos hace que las UI se perciban menos duras que las UF en los tiempos de almacenamiento. Por otro lado, se suma el efecto provocado por los microorganismos al consumir los carbohidratos de la pulpa como sustrato alimenticio

(Madigan *et al.*, 2004; Puente, 2003; Reuter *et al.*, 2002; Holzappel y Schillinger, 2002).

La Figura 6 presentan microfotografías por SEM de la UF (a y b), UI con *L. casei* en las zonas del pedúnculo (c y d), película cerosa (e y f) y en la pulpa (g y h). Las microfotografías a y b, presentan la heterogeneidad del pedúnculo y la película cerosa de la UF, donde se aprecia a 500 aumentos la diferencia en porosidad de cada una de ellas, siendo el pedúnculo un área muy favorable para el proceso IV y la otra compacta o poco permeable a fluidos de transferencia; esta situación ha sido observada por otros autores (Restrepo, 2008; Botero, 2009). En la microfotografía c tomada a 500 aumentos, se resaltan los poros del pedúnculo llenos de SI y en la microfotografía d tomada a 2000 aumentos, evidencia la presencia del *L. casei* en las cavidades de los poros. Las microfotografías e y f tomadas a 500 y 2000 aumentos respectivamente, alcanzan a evidenciar la presencia del *L. casei* en el interior de la película cerosa, lo que podría confirmar algo de permeabilidad por esta zona. Finalmente, las microfotografías g y h tomadas a 500 y 2.000 aumentos evidencian la presencia de los microorganismos en el interior del fruto.

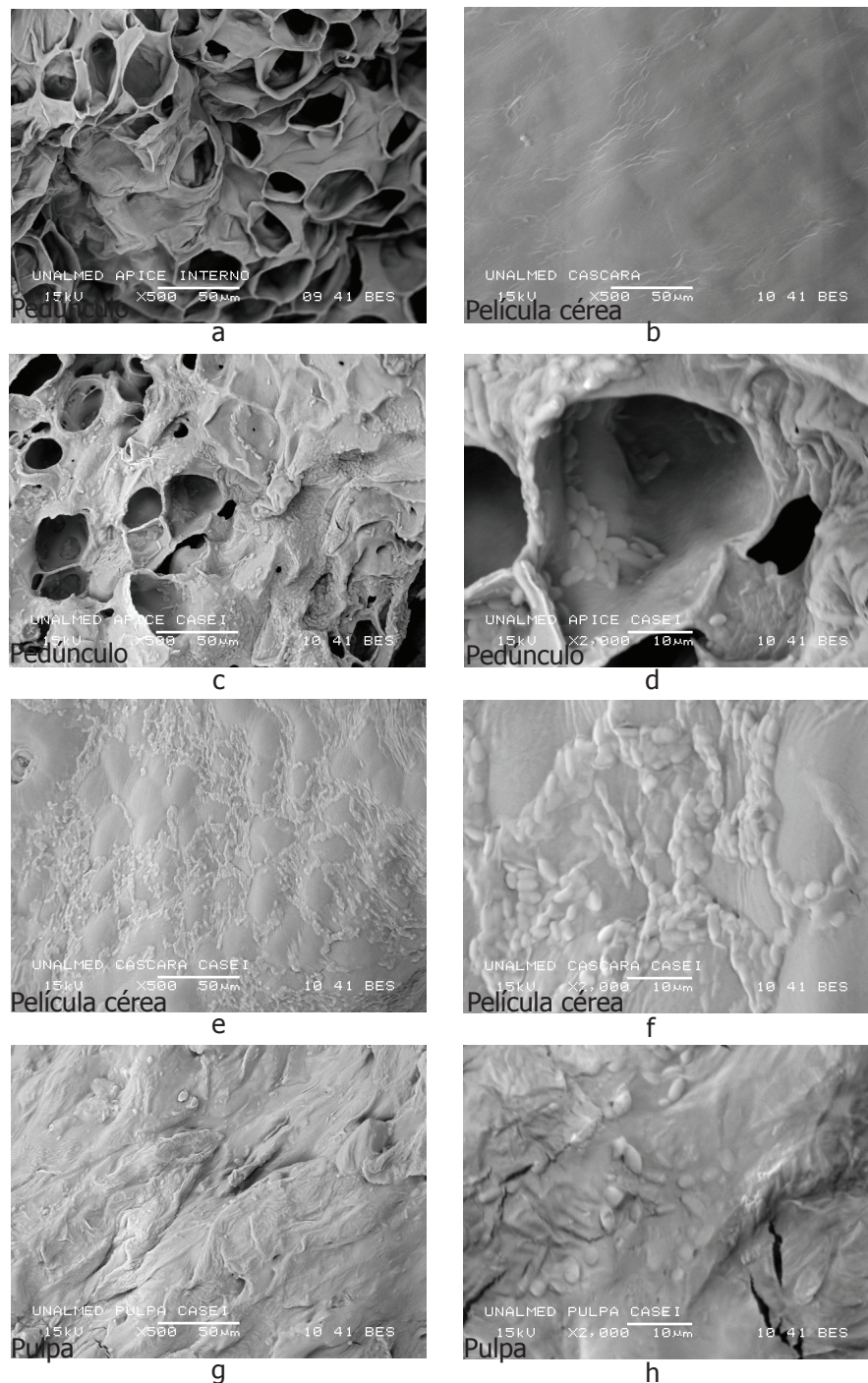


Figura 6. Microfotografías de tejidos de frutos de uchuva obtenidas por SEM de la UF (a y b), UI con *Lactobacillus casei* en la zona del pedúnculo (c y d), UI con *L. casei* en la película cerosa (e y f) y UI con *Lactobacillus casei* en la pulpa (g y h).

CONCLUSIONES

La aplicación IM, se presenta como una metodología efectiva en el desarrollo de frutos de uchuva

mínimamente procesados adicionados con microorganismos probióticos (*L. casei* ATCC 393), que puede brindar beneficios adicionales al consumidor. La matriz del fruto de uchuva a pesar de presentar una

complejidad en su microestructura externa, es apta para la aplicación de la técnica IV, alcanzando niveles de impregnación aceptables ($X \cong 6\%$, $\varepsilon_e \cong 10\%$) con la SI inoculada con *L. casei* en la escala McFarland 5. Se determinó que a condiciones de almacenamiento (4 °C y 15 días) el fruto de uchuva mantiene una población de microorganismos del orden de 10^9 UFC/100 g UF, lo que permite categorizar la UI con *L. casei* como un alimento con características probióticas. El análisis microestructural por SEM permitió evidenciar la presencia del microorganismo probiótico *L. casei* ATCC 393 en las zonas del pedúnculo, la película cética y en la pulpa de la uchuva ecotipo Colombia.

La investigación permitió el desarrollo de un producto innovador de frutos de uchuva mínimamente procesados con características de alimento probiótico, lo cual constituye un avance para el evolución de los alimentos funcionales.

RECONOCIMIENTOS

A la Dirección de Investigaciones (DIME) de la Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, por el financiamiento del proyecto.

BIBLIOGRAFÍA

- Alvarado, P., C. Verdugo y G. Fisher. 2004. Efecto de un tratamiento de frío (1,5°C) y la humedad relativa sobre las características fisicoquímicas de frutos de uchuva (*Physalis peruviana* L.) durante el posterior transporte y almacenamiento. *Agronomía Colombiana* 22(2): 147-159.
- AOAC-Association of Official Analytical Chemists. 1990. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 15th edition. Arlington, VA.
- AOAC-Association of Official Analytical Chemists. 1996. *Official Methods of Analysis*. Basic calculations for chemical and biological analyses. Arlington, VA.
- Ávila, J., P. Moreno, G. Fischer and D. Miranda. 2006. Influencia de la madurez del fruto y del secado del cáliz en la uchuva *Physalis peruviana* L. almacenada a 18°C. *Acta Agronómica* 55(4): 29-37.
- Betoret, N., L. Puentes, M. Díaz, M. Pagán, M. Garcia, M. Grass, J. Martínez-Monzó and P. Fito. 2003. Development of probiotic-enriched dried fruits by vacuum impregnation. *Journal of Food Engineering* 56(2-3): 273-277.
- Bomba, A., R. Nemcova, D. Mudronova and P. Guba. 2002. The possibilities of potentiating the efficacy of probiotics. *Trends in Food Science & Technology* 13(4): 121-126.
- Botero A. 2009. Aplicación de la ingeniería de matrices en el desarrollo de uchuva (*Physalis Peruviana* L.) mínimamente procesada fortificada con calcio, vitamina C y E. Tesis Magíster en Ciencias Farmacéuticas. Facultad de Química Farmacéutica. Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.
- Bustos, G., N. De la Torre, M. Martínez, A. Casares y Y. Domarco. 2004. Evaluación de azúcares hemicelulósicos de las podas de sarmiento y lías de vinificación como medio nutritivo para la producción de ácido láctico por *Lactobacillus pentosus*. *Ciencia y Tecnología Alimentaria* 4(4): 283-291.
- Castañeda, G. y R. Paredes. 2003. Estudio del proceso respiratorio, principales ácidos orgánicos, azúcares y algunos cambios fisicoquímicos en el desarrollo del fruto de la uchuva (*Physalis peruviana* L.). Inventario de investigaciones realizadas en poscosecha de productos agrícolas en la Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. 92 p.
- Cháfer, M., C. Martínez, A. Chiralt and P. Fito. 2003. Microstructure and vacuum impregnation response of citrus peels. *Food Research International* 36(1): 35-41.
- Charalampopoulos, D., R. Wang, S. Pandiella and C. Webb. 2002. Application of cereals and cereal components in functional foods: a review. *International Journal of Food Microbiology* 79(1-2): 131-141.
- Chiralt, A., P. Fito, A. Andrés, J. Barat, J. Martínez and N. Martínez. 1999. Vacuum impregnation: a tool in minimally processing of foods. pp. 341-356. In: Oliveira, F.A.R. and J.C. Oliveira (ed.). *Processing Foods: Quality Optimization and Process Assessment*. CRC Press, Boca Ratón. 415 p.
- Chiralt, A., N. Martínez, J. Martínez, P. Talens, G. Moraga, A. Ayala and P. Fito. 2001. Changes in mechanical properties throughout osmotic processes cryoprotectant effect. *Journal of Food Engineering* 49(2-3): 129-135.
- CODEX-Alimentarius Commission. Comité del Codex sobre Frutas y Hortalizas Frescas. 2007. Norma para la uchuva. Codex stan 226-2001.

- Collado, M., J. Meriluoto and S. Salminen. 2007. Measurement of aggregation properties between probiotics and pathogens: *in vitro* evaluation of different methods. *Journal of Microbiological Methods* 71(1): 71- 74.
- Cortés, M., A. Osorio y E. García. 2007. Manzana deshidratada fortificada con vitamina E utilizando la Ingeniería de Matrices. *Vitae* 14(2): 17-26.
- Cortés, M. 2004. Desarrollo de productos de manzana deshidratados enriquecidos con vitamina E. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. España.
- Cueto, M., J. Pardo, D. García, J. Quintero y I. Posada. 2008. Supervivencia de bacterias ácido lácticas en uchuvas impregnadas y deshidratadas con aire caliente. En: III Jornadas de Socialización de Resultados de Investigación, Universidad de la Sabana, <http://enif.unisabana.edu.co/InvestigacionWeb/WFPonenciaPublica.aspx?PON=39>; Consulta: diciembre 2008.
- Fasoli, S., M. Marzotto, L. Rizzotti, F. Rossi, F. Dellaglio and S. Torriani. 2003. Bacterial composition of commercial probiotic products as evaluated by PCR-DGGE analysis. *International Journal of Food Microbiology* 82(1): 59-70.
- Fischer, G., V. Flórez y A. Sora. 2000. Producción, poscosecha y exportación de la Uchuva (*Physalis peruviana* L.). Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía, Bogotá. 175 p.
- Fito, P. and A. Chiralt. 2000. Vacuum impregnation of plant tissues. pp. 189-204. En: Alzadora, S.M, M.S. Tapia and A. López (ed.). *Minimally processed fruits and vegetables: fundamental aspects and applications*. Aspen Publisher, Inc., Maryland. 360 p.
- Fito, P. and R. Pastor. 1994. Non-diffusional mechanisms occurring during vacuum osmotic dehydration. *Journal of Food Engineering* 21(4): 513-519.
- Fito, P., A. Chiralt, J. Barat, A. Andrés, J. Martínez and N. Martínez. 2001a. Vacuum impregnation for development of new dehydrated products. *Journal of Food Engineering* 49(4): 297-302.
- Fito, P., A. Chiralt, N. Betoret, M. Grass, M. Cháfer, J. Martínez, A. Andrés and D. Vidal. 2001b. Vacuum impregnation and osmotic dehydration in matrix engineering application in functional fresh food development. *Journal of Food Engineering* 49(2-3): 175-183.
- Fito, P. 1994. Modelling of vacuum osmotic dehydration of foods. *Journal of Food Engineering* 22(1-4): 313-328.
- Giraldo, G., A. Duque y L. Padilla. 2007. Impregnación de mango con probióticos. En: *Memorias VIII Congreso de Estudiantes de Química*. Universidad del Valle, Cali.
- Grass, M., D. Vidal, N. Betoret, A. Chiralt and P. Fito. 2003. Calcium fortification of vegetables by vacuum impregnation: interactions with cellular matrix. *Journal of Food Engineering* 56(2-3): 279-284.
- Hammes, W. and C. Hertel. 2002. Research approaches for pre and probiotics: challenges and outlook. *Food Research International* 35(2-3): 165-170.
- Herrera, A. 2000. Manejo poscosecha. pp. 109-127. En: Flórez, V., G. Fisher y A. Sora (ed.). *Producción, poscosecha y exportación de uchuva (*Physalis peruviana* L.)*. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. 175 p.
- Holzappel, W. and U. Schillinger. 2002. Introduction to pre and probiotics. *Food Research International* 35(2-3): 109-116.
- ICONTEC-Instituto Colombiano de Normas Técnicas. 1999. Uchuva (*Physalis peruviana*), para el consumo fresco o destinado al procesamiento industrial. Norma Técnica Colombiana NTC 4580. Bogotá.
- Jenkins, B., S. Holsten, S. Bengmark and R. Martindale. 2005. Probiotics: A practical review of their role in specific clinical scenarios. *Nutrition in Clinical Practice* 20 (2): 262-270.
- Lanchero, O., G. Velandia, G. Fischer, N. Varela y H. Garcia. 2007. Comportamiento de la uchuva (*Physalis peruviana* L.) en poscosecha bajo condiciones de atmósfera modificada activa. *Revista Corpoica. Ciencia y Tecnología Agropecuaria* 8(1): 61-68.
- Madigan, M., J. Martinko y J. Parker. 2004. *Biología de los microorganismos*. Décima edición. Prentice Hall, Madrid. 1096 p.

- Martínez, J. 1998. Cambios físico-químicos en manzanas Granny Smith asociados a la impregnación a vacío. Aplicaciones en congelación. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia, España.
- Martínez, J., J.M. Barat, C. González, A. Chiralt and P. Fito. 2000. Changes in thermal properties of apple due to vacuum impregnation. *Journal of Food Engineering* 43(4): 213-218.
- Michida, H., S. Tamalampudi, S. Pandiella, C. Webb, H. Fukuda and A. Kondo. 2006. Effect of cereal extracts and cereal fiber on viability of *Lactobacillus plantarum* under gastrointestinal tract conditions. *Biochemical Engineering Journal* 28(1): 73-78
- Muntada, V., L. Gerschenson, S. Alzamora and M. Castro. 1998. Solute infusion effects on texture of minimally processed kiwifruit. *Journal Food Science* 63(4): 616-620.
- Novoa, R., M. Bojaca, J. Galvis y G. Fisher. 2006. La madurez del fruto y el secado del cáliz influyen en el comportamiento poscosecha de la uchuva almacenada a 12°C (*Physalis peruviana* L.). *Agronomía Colombiana* 24(1): 77-86.
- Osorio, D. y J. Roldán. 2004. Manual de la uchuva. Editor Grupo Latino Ltda.
- Prado, F., J. Parada, A. Pandey and C. Soccol. 2008. Review trends in non-dairy probiotic beverages. *Food Research International* 41(2): 111-123.
- Puente, L. 2003. Aplicación de la técnica de impregnación a vacío en la obtención de alimentos funcionales con contenido probiótico a partir de manzana. Tesis Doctoral. Departamento de Tecnología de Alimentos. Universidad Politécnica de Valencia, Valencia.
- Puupponen-Pimiä, R., A. Aura, K. Oksman-Caldentey, P. Myllärinen, M. Saarela, T. Mattila-Sandholm and K. Poutanen. 2002. Development of functional ingredients for gut health. *Food Science & Technology* 13(1): 3-11.
- Rakin, M., M. Vukasinovic, S. Siler-Marinkovic and M. Maksimovic. 2007. Contribution of lactic acid fermentation to improved nutritive quality vegetable juices enriched with brewer's yeast autolysate. *Food Chemistry* 100(2): 599-602.
- Restrepo, A. 2008. Nuevas perspectivas de consumo de frutas: uchuva (*Physalis peruviana* L.) y fresa (*Fragaria vesca* L.) mínimamente procesadas fortificadas con vitamina E. Tesis Magíster en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Colombia. Medellín. 109 p.
- Reuter, G., G. Klein and M. Goldberg. 2002. Identification of probiotic cultures in food samples. *Food Research International* 35(2-3): 117-124.
- Roberfroid, M. 2000. Defining Functional Foods. pp. 9-29. In: Gibson, G. and C.M. Williams (ed.). *Functional Foods: concepts to product*. Cambridge, Woodhead. 374 p.
- Rodríguez, N. y Bueno M. 2006. Estudio de la diversidad citogenética de *Physalis peruviana* L. (*solanaceae*). En: Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, <http://www.scielo.org.co/pdf/abc/v11n2/v11n2a06.pdf>; consulta: noviembre 2008.
- Salmínen, S. and A. Von Wright. 1998. *Lactic Acid Bacteria. Microbiology and Functional Aspects*. Second edition. Marcel Dekker, INC. 617 p.
- Salvatori, D., A. Andrés, A. Chiralt and P. Fito. 1998. The response of some properties of fruits to vacuum impregnation. *Journal of Food Process Engineering* 21(1): 59-73.
- Serna, L. y A. Rodríguez. 2004. Jugo de caña verde como sustrato en la producción fermentativa por lotes de ácido láctico. *Revista Colombiana de Biotecnología* 6(2): 37-42.
- Shah, N. 2001. Functional foods from probiotics and prebiotics. *Food Technology* 55(11): 46-53.
- Shah, N. 2007. Review funcional cultures and health benefits. *International Dairy Journal* 17(11): 1262- 1277.
- Tapia, M.S., A. López, R. Consuegra, P. Corte and J. Welti. 1999. Minimally processed papaya by vacuum osmotic dehydration (VOD) techniques. *Food Science and Technology International* 5(1): 41-49.
- Tuhoy, M., H. Probert, C. Smejkal and G. Gibson. 2003. Using probiotics and prebiotics to improve gut health. *Drug Discovery Today* 8(15): 692-700.

- Wu, S., L. Ng, C. Chen, D. Lin, S. Wang and C. Lin. 2004a. Antihepatoma activity of *Physalis angulata* and *Physalis peruviana* extracts and their effects on apoptosis in human Hep G2 cells. *Life Science* 74(16): 2061–2073.
- Wu, S., L. Ng, D. Lin, S. Huang, S. Wang and C. Lin. 2004b. *Physalis peruviana* extract induces apoptosis in human Hep G2 cells through CD95/CD95L system and the mitochondrial signaling transduction pathway. *Cancer Letter* 215(2): 199-208.
- Wu, S., L. Ng, Y. Huang, D. Lin, S. Wang, S. Huang and C. Lin. 2005. Antioxidant activities of *Physalis peruviana*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 28 (6): 963–966.
- Wu, S., J. Tsai, S. Chang, D. Lin, S. Wang, S. Huang and L. Ng. 2006. Supercritical carbon dioxide extract exhibits enhanced antioxidant and anti-inflammatory activities of *Physalis peruviana*. *Journal of Ethnopharmacology* 108(3): 407-413
- Zubillaga, M., R. Weill, E. Postaire, C. Goldman, R. Caro and J. Boccio. 2001. Effect of probiotics and functional foods and their use in different diseases. *Nutrition Research* 21 (3): 569-579.