



“Aislamiento y caracterización de bacterias ácido lácticas del mosto de jugo de maracuyá, considerando dos variedades: amarilla (*P. edulis flavicarpa*) y morada (*P. edulis sims.*), para su aplicación en la elaboración de vegetales mínimamente procesados (IV gama).”

Rivera Benavides, Jessica Paola

Departamento de Ciencias de la Vida y Agricultura

Carrera de Ingeniería en Agropecuaria

Trabajo de Integración Curricular, previo a la obtención del título de Ingeniera
Agropecuaria

PhD. Sánchez Llaguno, Sungey Naynee

24 de febrero del 2023



Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Agropecuaria

Certificación

Certifico que el trabajo de integración curricular: **“AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS DEL MOSTO DE JUGO DE MARACUYÁ, CONSIDERANDO DOS VARIEDADES: AMARILLA (p. *Edulis flavicarpa*) Y MORADA (p. *Edulis sims.*), PARA SU APLICACIÓN EN LA ELABORACIÓN DE VEGETALES MÍNIMAMENTE PROCESADOS (IV GAMA).”** fue realizado por la señorita **Rivera Benavides Jessica Paola**; el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además fue revisado y analizado en su totalidad por la herramienta de prevención y/o verificación de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Santo Domingo de los Tsáchilas, 24 febrero del 2023

Firma:



PhD. Sanchez Llaguno Sungey Naynee.

C.C. 12005348673

Director del Proyecto de Investigación

Responsabilidad de auditoria

**Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura
Carrera de Ingeniería en Agropecuaria**

Responsabilidad de Autoría

Yo, **Rivera Benavides Jessica Paola**, con cédula de ciudadanía N° 1721525341, declaramos que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: **“AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS DEL MOSTO DE JUGO DE MARACUYÁ, CONSIDERANDO DOS VARIEDADES: AMARILLA (p. *Edulis flavicarpa*) Y MORADA (p. *Edulis sims.*), PARA SU APLICACIÓN EN LA ELABORACIÓN DE VEGETALES MÍNIMAMENTE PROCESADOS (IV GAMA).”** es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Santo Domingo de los Tsáchilas, 24 febrero del 2023

Firma

Rivera Benavides Jessica Paola

C.C.: 1721525341

Autorización de publicación



Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Agropecuaria

Autorización de Publicación

Yo, **Rivera Benavides Jessica Paola**, con cédula de ciudadanía N° 1721525341, autorizamos a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de integración curricular: **“AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS DEL MOSTO DE JUGO DE MARACUYÁ, CONSIDERANDO DOS VARIEDADES: AMARILLA (p. *Edulis flavicarpa*) Y MORADA (p. *Edulis sims.*), PARA SU APLICACIÓN EN LA ELABORACIÓN DE VEGETALES MÍNIMAMENTE PROCESADOS (IV GAMA).”** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de nuestra responsabilidad.

Santo Domingo de los Tsáchilas, 24 febrero del 2023

Firma

Rivera Benavides Jessica Paola

C.C.: 1721525341

Dedicatoria

Dedico la tesis a mi madre por brindarme su amor incondicional, apoyo cada instante en días excelentes y adversidades por eso con amor para usted mama María Benavides, y a mis hermanos

Edgar y Diego que han coexistido en todo momento y ayudarme a cumplir mis metas.

A mis padres, que me han inculcado valores, perseverancia y trabajo, a mi papá que a pesar de las adversidades aun consto la dicha de seguir compartiendo cada día y cada meta así poder culminar

con esta etapa universitaria.

Paola

Agradecimiento

Agradezco a Jehová por brindarme mi familia, vida, guía, perseverancia y así culminar mis proyectos.

A mi familia quienes, con su amor, comprensión, me han acompañado en cada uno de mis propósitos.

A mis docentes en general que impartieron sus conocimiento y apoyo, Ph.D Sungey Sánchez, Ph.D Juan Neira, por su guía y contribución de sus conocimientos en este trabajo, Ing. Marcelo Patiño, Ing. Vinicio Uday por brindar apoyo en parte de mi carrera universitaria.

A mis compañeros de carrera Agropecuaria y a los que en este proyecto compartieron de carrera de Biotecnología.

Paola

Índice de contenido

Caratula	1
Reporte de verificación de contenido	2
Certificación	3
Responsabilidad de auditoria.....	4
Autorización de publicación	5
Dedicatoria	6
Agradecimiento	7
Índice de contenido.....	8
Índice de tablas	14
Índice de Figuras	17
Resumen.....	18
Abstrac	19
Capítulo I	20
Introducción	20
Objetivos	22
1.1. <i>Objetivo General</i>	22
1.2. <i>Objetivo específico</i>	22
Hipótesis.....	23
1.3. <i>Hipótesis para el Factor A (concentración de bioconservante)</i>	23

1.4.	<i>Hipótesis para el Factor B (vegetales mínimamente procesados IV GAMA) ..</i>	23
Capitulo II		24
1.5.	<i>Origen e importancia de la Maracuyá.....</i>	24
1.6.	<i>Producción mundial de la Maracuyá.....</i>	24
1.7.	<i>Taxonomía de la Maracuyá</i>	25
1.8.	<i>Principales variedades de Maracuyá.....</i>	25
1.8.1.	<i>Variedad amarilla</i>	25
1.8.2.	<i>Variedad morada.....</i>	26
1.9.	<i>La industria alimenticia (productos procesados).....</i>	26
1.9.1.	<i>Ventajas de los alimentos de cuarta gama</i>	28
1.9.2.	<i>Desventajas de los alimentos de cuarta gama</i>	28
1.10.	<i>Productos aptos para la elaboración de alimentos conservados</i>	29
1.10.1.	<i>Col.....</i>	29
1.10.2.	<i>Pepino.....</i>	29
1.10.3.	<i>Palmito</i>	30
1.11.	<i>Bacterias acido lácticas.....</i>	30
1.12.	<i>Bacteria Limosilactobasillus reuteri</i>	31
Capítulo III		33
Materiales y métodos		33
1.13.	<i>Ubicación del área de investigación</i>	33
1.13.1.	<i>Ubicación Política</i>	33

	10
1.13.2. Ubicación Ecológica.....	33
1.13.3. Ubicación Geográfica	34
1.13.4. Materiales	35
1.14. Métodos.....	46
1.14.1. Fermentación del mosto de maracuyá	46
1.14.2. Siembra para la obtención de bacterias ácido lácticas	47
1.14.3. Caracterización morfológica de los aislados de BAL	47
1.14.4. Recuento UFC y densidad óptica de las bacterias ácido lácticas, aerobios, mohos y levaduras.....	48
1.14.5. Obtención de bacterias ácido lácticas, purificación o repique	49
1.14.6. Multiplicación de BAL en caldo de agar Broth	49
1.14.7. Concentrado de BAL Preparación de bioconservante.....	49
1.14.8. Determinación de absorbancia	50
1.14.9. Determinación del pH	51
1.14.10. Determinación de Acidez	51
1.14.11. Determinación de humedad	53
1.14.12. Determinación de cenizas	54
1.14.13. Determinación microbiológica de petrifilm específicos.....	55
1.15. Diseño experimental	56
1.15.1. Factores del experimento	56
1.15.2. Tratamientos a comparar.....	56

	11
1.15.3. Tipo de diseño	57
1.15.4. Repeticiones	57
1.15.5. Análisis estadístico	57
Capítulo IV	59
Resultados	59
1.16. <i>Determinación del rendimiento mediante balance de materiales</i>	59
1.17. <i>Aislamiento de bacteria ácido láctica del mosto de jugo de maracuyá</i>	60
1.18. <i>Análisis fisicoquímicos del mosto de jugo de maracuyá, considerando dos variedades</i>	61
1.19. <i>Propiedades microbiológicas mosto de jugo de maracuyá fermentado, considerando dos variedades</i>	61
1.20. <i>Identificación de los aislados BAL</i>	62
1.20.1. <i>Caracterizaciones morfológicas de colonias de BAL, considerando dos variedades</i>	62
1.20.2. <i>Secuenciación y análisis filogenético de los aislados BAL</i>	63
1.21. <i>Resultados del estudio estadístico ANOVA DBCA, con arreglo AxB</i>	64
1.22. <i>Análisis de Varianza para el pH</i>	64
1.23. <i>Análisis de Varianza para Acidez</i>	65
1.24. <i>Análisis de Varianza para Humedad</i>	66
1.25. <i>Análisis de Varianza para % Materia Seca</i>	67
1.26. <i>Análisis de Varianza para Ceniza</i>	67
1.27. <i>Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$) concentraciones UFC/ml (Factor A)</i> .	68
1.28. <i>Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$) Tipos de vegetales (Factor B)</i>	70

1.29.	<i>Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$) para concentraciones UFC/ml (Factor A) * Tipos de vegetales (Factor B).....</i>	73
1.30.	<i>Resultados de análisis de conglomerados en concentraciones UFC/ml (Factor A)</i>	78
1.31.	<i>Matriz de correlación de componentes principales concentraciones</i>	81
1.32.	<i>Concentraciones UFC/ml (Factor A).....</i>	82
1.33.	<i>Método de extracción: análisis de componentes principales.</i>	84
1.34.	<i>Propiedades microbiológicas de los tipos de vegetales.....</i>	87
1.35.	<i>Determinación microbiológica de efectividad del bioconservante</i>	88
Capítulo V	89
Discusión	89
1.36.	<i>Determinación del rendimiento mediante balance de materiales</i>	89
1.37.	<i>Análisis fisicoquímicos del mosto de jugo de maracuyá, considerando dos variedades</i>	90
1.38.	<i>Propiedades microbiológicas mosto de jugo de maracuyá fermentado, considerando dos variedades.....</i>	91
1.39.	<i>Caracterizaciones morfológicas de colonias de BAL, considerando dos variedades</i>	92
1.40.	<i>Concentraciones UFC/ml (Factor A).....</i>	92
1.41.	<i>Tipos de vegetales (Factor B)</i>	93
1.42.	<i>Interacciones A*B.....</i>	94
1.43.	<i>Propiedades microbiológicas de los tipos de vegetales.....</i>	97

1.44. <i>Determinación microbiológica de efectividad del bioconservante</i>	98
Capítulo VI	99
Conclusiones	99
II. Recomendaciones	100
Capítulo VII	103
Bibliografía	103

Índice de tablas

- Tabla 1** Clasificación de los alimentos en gamas. **¡Error! Marcador no definido.**
- Tabla 2** Recursos empleados en la obtención de fermentación de mosto de maracuyá, en trampa de agua..... **¡Error! Marcador no definido.**
- Tabla 3** Recursos empleados en la obtención de bacteria ácido lácticas, siembra. .. **¡Error! Marcador no definido.**
- Tabla 4** Recursos empleados en la caracterización morfológica de BAL atreves de método de tinción de gram. **¡Error! Marcador no definido.**
- Tabla 5** Recursos empleados en el recuento de UFC de ácido lácticos, aerobios, mohos y levaduras. **¡Error! Marcador no definido.**
- Tabla 6** Recursos empleados en la obtención de bacteria ácido lácticas, purificación o repique..... **¡Error! Marcador no definido.**
- Tabla 7** Recursos empleados para la multiplicación de BAL en caldo de agar Broth. **¡Error! Marcador no definido.**
- Tabla 8** Recursos empleados para la obtención de concentrado de BAL. Preparación de bioconservante. **¡Error! Marcador no definido.**
- Tabla 9** Recuento de UFC de ácido lácticas y mohos y levaduras en Vegetales de IV gama. **¡Error! Marcador no definido.**
- Tabla 10** Determinación por el método potenciómetro la acidez titulable. **¡Error! Marcador no definido.**
- Tabla 11** Recursos empleados en la determinación de pH. **¡Error! Marcador no definido.**
- Tabla 12** Determinación del contenido de humedad y materia seca. ... **¡Error! Marcador no definido.**
- Tabla 13** Determinación del contenido de cenizas..... **¡Error! Marcador no definido.**
- Tabla 14** Recursos empleados en la determinación microbiológica de E.Coli, C. coliformes, Salmonella y Enterobacterias. **¡Error! Marcador no definido.**

Tabla 15 Concentraciones soluciones libre de células (SLC) del bioconservante. **¡Error! Marcador no definido.**

Marcador no definido.

Tabla 16 Factores y niveles por probar en el estudio de la caracterización del mosto de maracuyá de las dos variedades, concentración de BAL y aplicación en vegetales de IV gama. **¡Error! Marcador no definido.**

Tabla 17 Tratamientos a comparar en el estudio de la caracterización del mosto de maracuyá de las dos variedades, concentración de BAL y aplicación en vegetales de IV gama. **¡Error! Marcador no definido.**

Tabla 18 Esquema de análisis de varianza para el estudio de la caracterización del mosto de maracuyá de las dos variedades, concentración de BAL y aplicación en vegetales de IV gama. **¡Error! Marcador no definido.**

Tabla 19 Rendimiento mediante el balance de materiales mosto de maracuyá variedad amarilla. **¡Error! Marcador no definido.**

Tabla 20 Rendimiento mediante balance de materiales mosto de maracuyá variedad morada. **¡Error! Marcador no definido.**

Tabla 21 Análisis fisicoquímicos del mosto de jugo de maracuyá, considerando dos variedades. **¡Error! Marcador no definido.**

Tabla 22 *Propiedades microbiológicas mosto de jugo de maracuyá fermentado, considerando dos variedades.* **¡Error! Marcador no definido.**

Tabla 23 Análisis de Varianza para pH - Suma de Cuadrados Tipo III. ... **¡Error! Marcador no definido.**

Tabla 24 Análisis de Varianza para Acidez - Suma de Cuadrados Tipo III. **¡Error! Marcador no definido.**

Tabla 25 Análisis de Varianza para Humedad (%) - Suma de Cuadrados Tipo III. ... **¡Error! Marcador no definido.**

Tabla 26 Análisis de Varianza para % MS - Suma de Cuadrados Tipo III. **¡Error! Marcador no definido.**

Tabla 27 Análisis de Varianza para Ceniza - Suma de Cuadrados Tipo III. **¡Error! Marcador no definido.**

Tabla 28 Prueba de significación de Tukey para concentraciones UFC/ml (Factor A).
..... **¡Error! Marcador no definido.**

Tabla 29 Prueba de significación de Tukey $P < 0,05$ para Tipos de vegetales (Factor B).
..... **¡Error! Marcador no definido.**

Tabla 30 Prueba de significación de Tukey para concentraciones UFC/ml (Factor A) *
Tipos de vegetales (Factor B). **¡Error! Marcador no definido.**

Tabla 31 Matriz de proximidades..... **¡Error! Marcador no definido.**

Tabla 32 Primera aparición del Clúster de etapa **¡Error! Marcador no definido.**

Tabla 34 Matriz de correlación de los componentes que conforman las concentraciones.
..... **¡Error! Marcador no definido.**

Tabla 35 Concentraciones UFC/ml del Factor A. **¡Error! Marcador no definido.**

Tabla 36 Matriz de componente^a **¡Error! Marcador no definido.**

Tabla 37 Matriz de componente. **¡Error! Marcador no definido.**

Tabla 38 Propiedades microbiológicas tipos de vegetales.. **¡Error! Marcador no definido.**

Tabla 39 Determinación microbiológica efectividad del bioconservante... **¡Error! Marcador no definido.**

Índice de Figuras

- Figura 1** Contenido nutricional de la maracuyá amarilla. **¡Error! Marcador no definido.**
- Figura 2** Contenido nutricional de la maracuyá purpura. **¡Error! Marcador no definido.**
- Figura 3** Proceso de los alimentos de cuarta gama..... **¡Error! Marcador no definido.**
- Figura 4** Ubicación geográfica del área investigación..... **¡Error! Marcador no definido.**
- Figura 5** Aislamiento de bacteria ácido láctica del mosto de jugo de maracuyá. **¡Error! Marcador no definido.**
- Figura 6** Morfologías de colonias de BAL en microscopio óptico 100x. ... **¡Error! Marcador no definido.**
- Figura 7** Reporte 16S rRNA de la secuenciación y análisis filogenético de los aislados BAL..... **¡Error! Marcador no definido.**

Figura 8 Prueba de significación de Tukey para concentraciones UFC/ml (Factor A).

..... **¡Error! Marcador no definido.**

Figura 9 Prueba de significación de Tukey para Tipos de vegetales (Factor B). **¡Error!**

Marcador no definido.

Figura 10 Prueba de significación de Tukey para Ácidos grasos monoinsaturados

(Interacción AB)..... **¡Error! Marcador no definido.**

Figura 11 Gráfico del dendograma utilizando un enlace único **¡Error! Marcador no**

definido.

Figura 12 Sedimentación del análisis de componentes principales. ... **¡Error! Marcador no**

definido.

Figura 13 Gráfico del análisis de componentes principales. **¡Error! Marcador no definido.**

Resumen

La conservación de alimentos es una alternativa, que otorga valor agregado al producto final, sin embargo, los preservantes químicos representan un gran riesgo para la salud.

Por ello, el objetivo de esta investigación fue aislar y caracterizar bacterias ácido lácticas del mosto de jugo de maracuyá (variedades amarilla y morada), para su aplicación en la elaboración de vegetales mínimamente procesados. La investigación se realizó en los

laboratorios de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE STO-DGO, se utilizaron dos factores, 1) concentración de bioconservante con dos concentraciones, y 2) vegetales mínimamente procesados (col, pepino y palmito). En los resultados, el rendimiento del mosto fue mejor en la variedad morada; con los análisis fisicoquímicos se generó una base de datos de las dos variedades; al caracterizar microbiológicamente, se afirmó que el bioconservante tiene el efecto de evitar la colonización de mohos y levaduras, se afirmó la presencia de *Limosilactobacillus reuteri*; al evaluar las interacciones de las concentraciones y los vegetales, se conoció que el pH, acidez, humedad, materia seca y ceniza, dependen del tipo de vegetal utilizado; finalmente en las propiedades microbiológicas de los vegetales, no hubo presencia de mohos y levaduras, en la efectividad del bioconservante, se observó que no hubo contaminación de *E. coli*; bacterias Coliformes; Enterobacterias y *Salmonella*, este resultado influencia sobre la efectividad del bioconservante.

Palabras claves: bioconservantes, conservación de vegetales, mosto de maracuyá, variedades de maracuyá.

Abstrac

Food preservation is an alternative, which gives added value to the final product, however, chemical preservatives represent a great risk to health. Therefore, the objective of this research was to isolate and characterize lactic acid bacteria from passion fruit juice must (yellow and purple varieties), for its application in the preparation of minimally processed vegetables. The research was carried out in the laboratories of the University of the Armed Forces ESPE STO-DGO, two factors were used, 1) concentration of biopreservative with two concentrations, and 2) minimally

processed vegetables (cabbage, cucumber and hearts of palm). In the results, the yield of the must was better in the purple variety; With the physicochemical analyzes, a database of the two varieties was generated; when characterizing microbiologically, it was affirmed that the biopreservative has the effect of avoiding the colonization of molds and yeasts, the presence of *Limosilactobacillus reuteri* was affirmed; when evaluating the interactions of the concentrations and the vegetables, it was known that the pH, acidity, humidity, dry matter and ash, depend on the type of vegetable used; finally, in the microbiological properties of the vegetables, there was no presence of molds and yeasts, in the effectiveness of the biopreservative, it was achieved that there was no *E. coli* contamination; coliform bacteria; Enterobacteria and Salmonella, this result influences the efficacy of the biopreservative.

Keywords: biopreservatives, vegetable preservation, passion fruit juice, passion fruit varieties.

Capítulo I

Introducción

La conservación de alimentos es una alternativa que presenta enormes ventajas tanto a nivel artesanal, como en la producción industrial, debido a que su ejecución no emplea recursos o implementos costosos y otorga un enorme valor agregado al producto final, a la vez que contribuye de manera significativa en la seguridad alimentaria (Yong, Calves, González, Permuy, & Pavón, 2017).

En la actualidad los preservantes químicos utilizados para la conservación de vegetales, representan un gran riesgo para la salud, pues se conoce que aproximadamente 600 millones de personas a nivel mundial se enferman por ingerir alimentos que contienen preservantes, siendo las principales causantes las microempresas (Organización Mundial de la Salud, 2019), las mismas que debido a sus bajo presupuesto se ven obligadas a utilizar conservantes químicos de baja calidad, por lo cual, la alternativa de obtener un conservante de origen vegetal resulta ser una propuesta alentadora para el sector agroindustrial (Ortiz-Muñoz, Ortega-Bonilla, Chito-Trujillo, Ramírez-Sanabria, & Rada-Mendoza, 2021).

Por otra parte, las Bacterias Acido Lácticas (BAL), son bacterias consideradas benéficas para el ser humano, las cuales producen ácido láctico como consecuencia final de la fermentación de carbohidratos (González-De la Cruz, Rodríguez-Palma, Escalante-Herrera, Pérez-Morales, & De la Cruz-Leyva, 2021), por ello, ejercen un papel importante en los procesos de preservación de alimentos, siendo muy utilizadas en la industria alimentaria, por su habilidad para acidificar y preservar alimentos, siendo una de sus más representativas características la conservación de la textura, sabor y olor de los fermentados (Agudelo, Mabel, Torres-Taborda, Álvarez-López, & Vélez-Acosta, 2015).

El efecto de conservación de las bacterias acido lácticas que actúan en contra de microorganismos patógenos, es una forma natural y amigable de conservación de vegetales (Rivero, Saguir, & Rodríguez, 2019), cabe recalcar, que los vegetales conservados, son considerados alimentos de cuarta gama, debido a su mínimo proceso previo al envasado y la capacidad de conservan sus propiedades saludables (Aroca, Regalado, & Acosta, 2018).

Cabe considerar, que en la actualidad la futa de maracuyá (*Passiflora edulis*) se ha convertido en una opción importante, dentro de los proceso fermentativos y

agroindustriales, siendo una de sus principales características la mejora de la composición bromatológica del producto fermentado (Romero, Medina, & García, 2017). En el proceso de fermentación de la pulpa de maracuyá, se produce el crecimiento de diversas bacterias ácido lácticas (Von, Chaves, & Arias, 2013), por ello, dentro del presente estudio se plantea aislar y caracterizar las bacterias ácido lácticas, presentes en el mosto del jugo de maracuyá, considerando las variedades amarilla (*P. edulis* favicarpa) y morada (*P. edulis* sims), con la finalidad de evaluar el efecto de la aplicación de bacterias ácido lácticas, sobre la bioconservación de vegetales mínimamente conservados.

Objetivos

1.1. Objetivo General

Aislar y caracterizar bacterias ácido lácticas del mosto de jugo de maracuyá, considerando dos variedades: Amarilla (*P. edulis* flavicarpa) y morada (*P. edulis* Sims.), para su aplicación en la elaboración de vegetales mínimamente procesados (IV Gama).

1.2. Objetivo específico

Aislar y caracterizar bacterias ácido lácticas presentes en el mosto de jugo de maracuyá, considerando dos variedades: Amarilla (*P. edulis flavicarpa*) y morada (*P. edulis* Sims.).

Evaluar el efecto de la aplicación de las bacterias ácido lácticas para la bioconservación de vegetales mínimamente procesados (IV Gama): Col. (*Brassica oleracea* var. capitata), pepino (*Cucumis sativus*) y palmito (*Bactris gasipaes*).

Determinar mediante análisis fisicoquímicos y microbiológicos la influencia del bioconservante aplicado en los vegetales mínimamente procesados (IV Gama).

Hipótesis

1.3. Hipótesis para el Factor A (concentración de bioconservante)

Ho = Las distintas concentraciones de los bioconservantes no influyen en la conservación de vegetales.

Ha = Las distintas concentraciones de los bioconservantes influyen en la conservación de vegetales.

1.4. Hipótesis para el Factor B (vegetales mínimamente procesados IV GAMA)

Ho = No existe diferencia en las características fisicoquímicas y microbiológicas en los vegetales mínimamente procesados (IV GAMA).

Ha = Existe diferencias en las características fisicoquímicas y microbiológicas en los vegetales mínimamente procesados (IV GAMA).

Capítulo II

1.5. Origen e importancia de la Maracuyá

El cultivo de maracuyá tiene origen en Brasil específicamente en la zona amazónica, se estima que existen de 150 a 200 especies *Passiflora*, sin embargo, las especies *Passiflora edulis* (maracuyá morado) y *Passiflora flavicarpa* (maracuyá amarillo), son las más explotadas a nivel industrial, la pulpa de esta fruta puede ser consumida como una fruta fresca o como un producto industrializado (crema, dulces confites, néctar, concentrados, entre otros), mientras que la cascara, también puede ser aprovechada a través de la elaboración de raciones alimenticias como un suplemento en las explotaciones ganaderas bovinas, ya que contiene altas concentraciones de aminoácidos, proteínas, carbohidratos y pectina, por lo cual en la actualidad se está aplicando en el

área medicinal como un relajante muscular (Centro de Validación de Tecnologías Agropecuarias [CEDEVA], 2015).

1.6. Producción mundial de la Maracuyá

Se estima que a nivel mundial 1,3 millones de toneladas son producidas y consumidas ya sea de forma natural o industrializada, se considera que los principales países productores son Brasil, Colombia, Perú y Ecuador en la zona latinoamericana. Cabe considerar que Brasil es el país considerado mayor productor, el cual expende dicha fruta casi en su totalidad de forma industrializada, mientras que el Ecuador es el país con altos índices de exportación de dicha fruta en estado fresco, bajo la presentación de pulpa, siendo su principal comprador Estados Unidos (Valarezo, Valarezo, Mendoza, Álvarez, & Vásquez, 2018).

1.7. Taxonomía de la Maracuyá

- Nombre común: maracuyá, parchita, calala, maracujá, yellow passion- fruit.
- Orden: Passiflorales
- Familia: Passifloraceae
- Género: *Passiflora*
- Especie: *Edulis*
- Nombre científico: *Passiflora edulis* (Suarez & Tomalá, 2012).

1.8. Principales variedades de Maracuyá

De manera comercial son dos las principales variedades explotadas:

1.8.1. Variedad amarilla

La especie *Passiflora edulis* variedad Flavicarpa, es aquella que contiene su cáscara de color amarillo y se cultiva con facilidad hasta los 1000 msnm, a continuación, en la figura 1, se presenta el valor nutricional de la mencionada variedad (Quito & García, 2021).

Figura 1

Contenido nutricional de la maracuyá amarilla.



Fuente: HerbaZest (2020).

1.8.2. Variedad morada

Según Quito y García (2021), la especie *Passiflora edulis* variedad Purpúrea, mantiene en la cáscara del fruto una coloración morada o purpura, esta variedad se cultiva a altitudes mayores a 1000 msnm, la mayor diferencia entre la variedad Flavicarpa y Purpúrea es que esta última no tiene la capacidad de generar producciones tan numerosas como Flavicarpa, por lo que se la considera de producción no normal (Figura 2).

Figura 2

Contenido nutricional de la maracuyá purpura.



Fuente: Huerta Tropical (2019).

1.9. La industria alimenticia (productos procesados)

Según García (2008), los alimentos que contienen un mínimo procesado en estado fresco, también son conocidos como alimento de cuarta gama, siendo estos los productos que han sido procesado antes del envasado, las principales características de estos productos es que no contienen aditivos, preservantes y son envasados en atmósferas controladas, cabe considerar, que los alimentos de cuarta gama, necesitan ser conservados bajo una rigurosa cadena de frío, lo que le otorga mantener una viabilidad de aproximadamente 10 días. Los alimentos procesados se clasifican en las siguientes gamas, dependiendo del proceso al que fueron sometidos (Tabla 1):

Tabla 1

Clasificación de los alimentos en gamas.

Gamas	Detalle
I	Frutas y hortalizas que se venden en su estado fresco, conservadas por deshidratación y/o encurtidas.
II	Frutas y hortalizas que se comercializan en conserva.
III	Frutas y hortalizas que se comercializan congeladas.
IV	Frutas y hortalizas mínimamente procesadas, con venta en fresco.
V	Frutas y hortalizas que son cocinadas y se almacenan refrigeradas

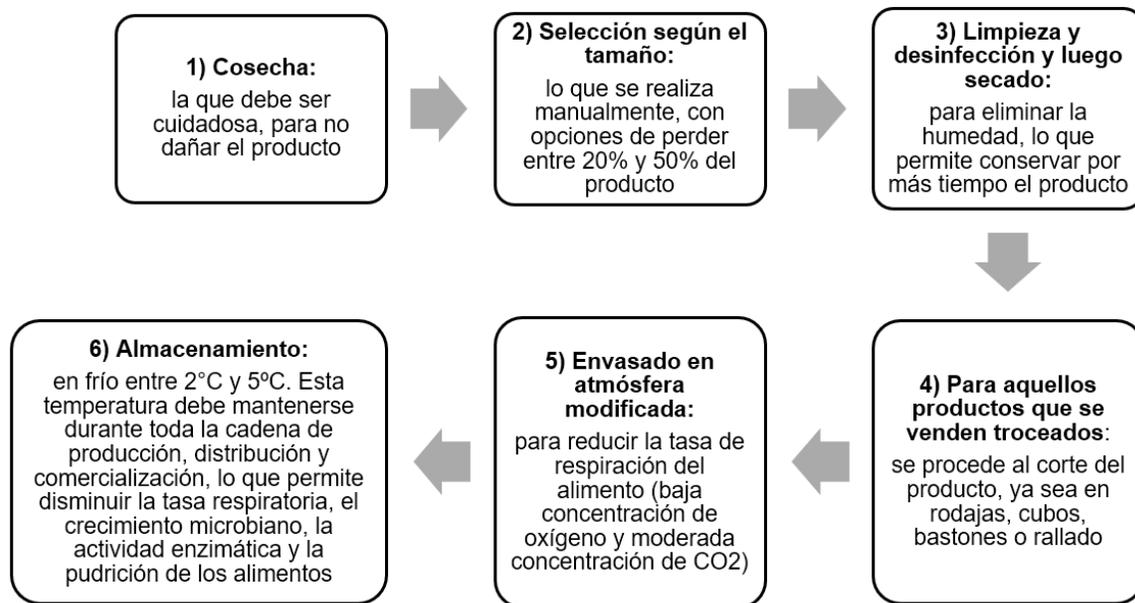
Fuente: Pefaur (2014).

Los alimentos que mantienen un mínimo proceso en estado fresco, se han establecido como una excelente alternativa para fortalecer e incentivar el consumo de los frutos y vegetales, a la vez que se otorga mayor tiempo de vida útil. Una de las causas por las que las personas, deben consumir estos productos es que el contenido nutricional del alimento se conserva intacto (Pefaur, 2014).

A continuación, en la figura 3 se expone el proceso que se lleva a cabo, para elaborar un producto de cuarta gama:

Figura 3

Proceso de los alimentos de cuarta gama.



Fuente: Pefaur (2014).

1.9.1. Ventajas de los alimentos de cuarta gama

- Al ser envasados, son inocuos y conservan sus características nutritivas.
- Se consideran alimentos seguros de consumirse, ya que no necesitan ser lavados o procesados luego de ser adquiridos.
- Son de fácil preparación.
- Tienen disponibilidad todo el tiempo.
- Conservan su calidad.
- Son de fácil almacenamiento.
- Se procesan bajos altos niveles de salubridad (Artés & Artés-Hernández, 2003).

1.9.2. Desventajas de los alimentos de cuarta gama

- Son altamente perecederos cuando son troceados.
- Cuando se realizan cortes, se incrementa la susceptibilidad a daños por microorganismos.

- Incrementa el valor agregado, y por ende su adquisición se dificulta (Artés & Artés-Hernández, 2003).

1.10. Productos aptos para la elaboración de alimentos conservados

1.10.1. Col

La col es una especie vegetal, que procede de la zona mediterránea, esta ha sido cultivada en Italia y Egipto, su consumo puede ser de forma natural en ensaladas, conservas, fermentadas o deshidratadas, esta especie también es conocida como repollo, una de las forma más comunes, como se la consume en países europeos es fermentada “Chucrut” lo que se basa en la fermentación láctica del fruto (hojas), esta fermentación se desarrolla espontáneamente por el crecimiento de Bacterias Acido Lácticas (BAL), que se encuentran de manera natural en este vegetal, las cuales permiten la formación de ácido láctico, el mismo que causa cambios en el contenido nutricional y sensorial en el producto (Belinchón, 2017).

1.10.2. Pepino

Este ha resultado ser un ingrediente muy utilizado en las ensaladas, por ello, suele mantenerse presente en todo punto de venta de alimentos, es muy apetecido por su carnosidad y contenido de líquidos, también es consumido crudo, apetecido encurtido y conservado. Este vegetal es una fruta de forma oblonga, mide de 8 a 25 cm, su corteza es verde oscuro, mientras que su pulpa es blanca, mantiene un sabor levemente dulce, para ser consumido, no necesita sazonarse. Este cultivo tuvo origen en Grecia y desde allí se dispersó a todo el mundo (Aguirre, 2016).

1.10.3. Palmito

Este cultivo se desarrolla en diversos lugares, siendo el Ecuador uno de sus principales productores, este vegetal posee una textura compacta, color marfil y una alta resistencia oxidativa, tiene la capacidad de generar producción todo el año, debido a sus características no estacionales, sin embargo, en dicho país el consumo de palmito, no es algo habitual, por consecuencia de la falta de cultura y tradición, en la inclusión de este alimento en la dieta alimenticia de los ecuatorianos, ya que la presentación del producto en un 90% es procesado o envasado, dando lugar a que su expendio sea costoso, razón por la cual solo es consumido en lugares donde que puede costear su consumo, haciéndolo inaccesible en la mesa de los ecuatorianos de nivel económico medio y bajo. Es importante resaltar, que el palmito contiene muchos nutrientes, por ende, es un alimento muy importante que debe ser incluido en las comidas de los ecuatorianos, ya sea como producto fresco, aderezo o en forma de conserva (Carrión, 2010).

1.11. Bacterias ácido lácticas

Las Bacterias Ácido Lácticas (BAL), ocupan un papel sumamente importante en el proceso de fermentación, por ello, estas se consideran un insumo indispensable dentro de la industria alimenticia, donde no solo se aprecia su capacidad de acidificar alimentos, sino también la habilidad de conservación, por medio de la inhibición de esporas, a lo que se suma, la conservación de textura, olor y sabor característico del alimento conservado (Guerra, Rúa, & Pastrana, 2015).

Los cultivos de bacterias ácido lácticas, tuvieron origen en los años 80, fueron cultivados por investigadores que observaban el comportamiento de la conducta de la leche cruda, dando como resultado leche coagulada con un sabor agradable en algunas ocasiones, siendo estas las seleccionadas para generar una inoculación al siguiente día,

a las cuales se denominó BAL, las cuales en la actualidad se utilizan en la industria láctica, para elaborar quesos, leches fermentadas y otros subproductos (Parra R. , 2010).

Las BAL, son acidificantes naturales que permiten mejorar las características de textura, aroma, valor nutricional y sabor de los productos que pasan por el proceso de fermentación, como resultado de la producción de exopolisacáridos y la modificación de diversas proteínas, lo que les proporciona un valor agregado en el ámbito industrial alimentario (Mathur & Singh, 2005).

1.12. Bacteria *Limosilactobacillus reuteri*

A continuación, se detallan las principales características de *L. reuteri*:

La bacteria *L. reuteri* fue identificada en 1962, donde se la describió como un individuo, que mantiene la capacidad de desarrollarse en ambientes anaeróbicos, en la actualidad, con ayuda de los avances tecnológicos se ha logrado generar la secuenciación de ADN de dicha bacteria, donde se ha logrado consensar taxonómicamente al género *Lactobacillus* con 25 nuevas especies, de las cuales 23 resultaron pertenecer al género *Limosilactobacillus*, debido a su facultad de producir exopolisacáridos de compuestos que contienen sacarosa, por lo cual en la actualidad a esta especie se la ha definido como *Limosilactobacillus reuteri* (Zheng, y otros, 2020).

La bacteria *L. reuteri* es un individuo heterofermentativo que habita en el área gastrointestinal de los seres humanos, la cual tiene la capacidad de generar compuestos con actividad antagónica conocida como reuterina y reuteriicina, las mismas que poseen acción antimicrobiana hidrosoluble que se desarrolla sobre un amplio rango de pH y presenta resistencia a enzimas proteolíticas y lipolíticas (Krasse, y otros, 2016).

La producción de las bacterias *L. reuteri* permite la formación de agentes inhibidores de bacterias Gram positivas, del género *Bacillus*, *Staphylococcus* y *Listeria*, y Gram negativas del género *Escherichia*, *Yersinia* y *Pseudomonas* (Armuzzi, 2017).

Cabe considerar, que a esta bacteria se la utiliza particularmente como un probiótico, el cual tiene la capacidad de fortalecer las defensas de los individuos que las ingieren, ayudando a combatir las enfermedades de origen gástrico, cólicos en lactantes, permite reducir infecciones y promueve la tolerancia de los alimentos utilizados como suplementos en recién nacidos (Sung, y otros, 2018).

Mediante una serie de investigaciones, se ha logrado recalcar la capacidad de inhibición que tiene esta bacteria, en contra del desarrollo de *Streptococcus mutans* (Wasfi, El-Rahman, Zafer, & Ashour, 2018).

Cabe recalcar, que luego de la aplicación de un sin número de investigaciones se ha determinado que el consumo de la cepa probiótica de *L. reuteri*, no ocasiona efectos contradictorios en la salud de las especies consumidoras (Vestman, Chen, Holgerson, Öhman, & Johansson, 2015).

Capítulo III

Materiales y métodos

1.13. Ubicación del área de investigación

1.13.1. Ubicación Política

País:	Ecuador
Provincia:	Santo Domingo de los Tsáchilas
Cantón:	Santo Domingo
Parroquia:	Luz de América
Sector:	Vía Quevedo, Km 24

1.13.2. Ubicación Ecológica

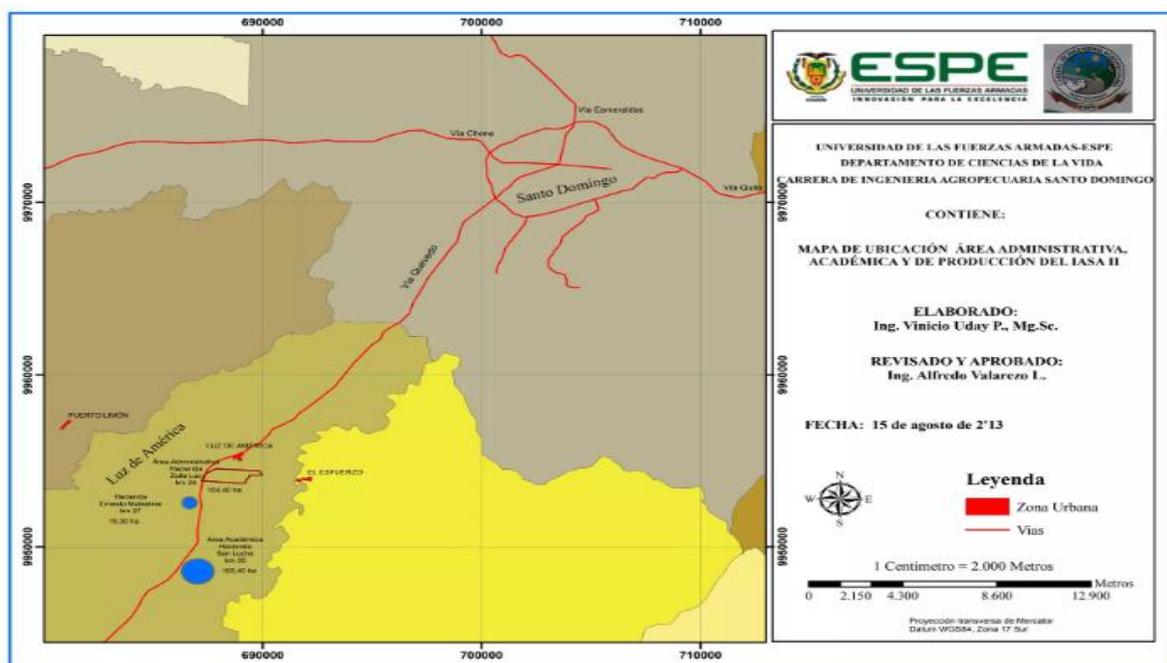
Zona de vida:	Bosque húmedo tropical
Altitud:	224 msnm
Temperatura media:	24.6 °C
Precipitación:	2860 mm/año
Humedad relativa:	85 %
Heliofanía:	680 horas luz/año
Suelos:	Franco arenosos
Fuente:	Estación Agrometeorológica "Puerto Ila", Km 34, Vía a Quevedo

1.13.3. Ubicación Geográfica

La presente investigación fue realizada en los laboratorios de bromatología y microbiología de alimentos de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE sede Santo domingo, en el km 24 Vía Santo Domingo - Quevedo, parroquia Luz de América, cantón Santo Domingo, provincia Santo Domingo de los Tsáchilas.

Figura 4

Ubicación geográfica del área investigación.



Fuente: Uday (2014).

Latitud: 00° 24' 36"

Longitud: 79° 18' 43"

Altitud: 270 msnm

1.13.4. Materiales

1.13.4.1. Fermentación del mosto de maracuyá

Tabla 2

Recursos empleados en la obtención de fermentación de mosto de maracuyá, en trampa de agua.

Equipos	Materiales	Reactivos	Muestra
Balanza analítica	Botellas de vidrio 1 L	Agua destilada	Mosto de maracuyá
Estufa	Manguera trasparente		
Cámara de flujo	3/8 “		
Laminar	Parafilm		
Refractómetro	Cinta taípe		
Espectrofotómetro	Botellas plásticas 500 gramos (g).		
	Papel aluminio		
	Cuchillo		
	Vasos de precipitación de 500 ml		

1.13.4.2. Obtención de bacterias ácido lácticas, siembra

Tabla 3

Recursos empleados en la obtención de bacteria ácido lácticas, siembra.

Equipos	Materiales	Reactivos	Muestra
Balanza analítica	Vasos de precipitación 10 ml	Peptona 1g/L	Mosto fermentado
Estufa	precipitación 10 ml	Agua destilada	
Estufa	precipitación 10 ml	Agua destilada	
Cámara de flujo laminar	Tubo de ensayo	Medio Agar MRS	
Plancha de calentamiento	Gradilla		
Agitador magnético	Marcador		
Agitador vortex	Lámpara de alcohol		
Incubadora	Fósforos		
	Cajas Petri		
	Micropipeta		
	Puntas		
	Parafilm		
	Fundas ziploc		
	Papel Limpion		
	Tijera		

1.13.4.3. Caracterización morfológica de los aislados de BAL

Tabla 4

Recursos empleados en la caracterización morfológica de BAL a través de método de tinción de gram.

Equipos	Materiales	Reactivos	Muestra
Cámara de flujo laminar	Porta objetos	Cristal violeta	Siembra de BAL
	Goteros	Lugol	
Microscopio óptico	Asas bacteriológicas	Alcohol cetona	
	Varillas de vidrio	Safranina	
	Bandeja	Aceite de inmersión	
	Lámpara de alcohol	Agua destilada	
	Fósforos		

1.13.4.4. Recuento UFC y densidad óptica de ácido lácticas, aerobios, mohos y levaduras.

Tabla 5

Recursos empleados en el recuento de UFC de ácido lácticos, aerobios, mohos y levaduras.

Equipos	Materiales	Reactivos	Muestra
Balanza	Tubos de ensayo	Peptona 1g/L	Colonias de BAL
Estufa	Gradilla	Agua destilada	
Cámara de flujo laminar	Lámpara de alcohol		
Plancha de calentamiento	Fósforos		
Agitador magnético	Marcador		
Agitador vortex	Asas		
	Micropipeta		
	Puntas		
	Papel Limpión		
	Petrifilm acido lácticas		
	Petrifilm aerobios		
	Petrifilm mohos y levaduras		

1.13.4.5. Obtención de bacterias ácido lácticas, purificación o repique

Tabla 6

Recursos empleados en la obtención de bacteria ácido lácticas, purificación o repique.

Equipos	Materiales	Reactivos	Muestra
Balanza analítica	Cajas Petri	Medio Agar MRS	Colonias de BAL
Estufa	Parafilm	Agua destilada	
Cámara de flujo laminar	Fundas ziploc		
	Papel Limpión		
Plancha de calentamiento	Tijera		
	Fósforos		
Refrigeradora	Marcador		
Incubadora	Lámpara de alcohol		
	Asas		
	Papel aluminio		

1.13.4.6. Secuenciación de BAL

- **Multiplicación de BAL**

Tabla 7

Recursos empleados para la multiplicación de BAL en caldo de agar Broth.

Equipos	Materiales	Reactivos	Muestra
Balanza analítica	Matraz Erlenmeyer	Medio Agar Broth	Colonias de BAL
Estufa	Parafilm	Agua destilada	secuenciada
Cámara de flujo laminar	algodón		
Plancha de calentamiento	Papel Limpión		
Incubadora	Tijera		
	Fósforos		
	Marcador		
	Lámpara de alcohol		
	Asas		

- **Purificación de concentrado de BAL**

Tabla 8

Recursos empleados para la obtención de concentrado de BAL. Preparación de bioconservante.

Equipos	Materiales	Reactivos	Muestra
Centrifuga	Tubos de centrifuga	Ácido cítrico	Caldo de agar Broth
Plancha de agitación	Papel Limpion Marcador	Citrato de sodio Agua destilada	con BAL
Espectrofotómetro	Asas Frascos ámbar de vidrio Atomizador		

- **Recuento de UFC de ácido lácticas y mohos y levaduras**

Tabla 9

Recuento de UFC de ácido lácticas y mohos y levaduras en Vegetales de IV gama.

Equipos	Materiales	Reactivos	Muestra
Balanza	Tubos de ensayo	Peptona 1g/L	Vegetales de IV Gama

Equipos	Materiales	Reactivos
Estufa	Gradilla	Agua destilada
Cámara de flujo laminar	Lámpara de alcohol	
	Fósforos	
Plancha de calentamiento	Marcador	
Agitador magnético	Espátula	
Agitador vortex	Mortero y pistilo	
Incubadora	Micropipeta	
	Puntas	
	Papel Limpión	
	Petriefilm acido lácticas	
	parafilm	
	Petriefilm aerobios	
	Petriefilm mohos y levaduras	

- **Determinación de acidez titulable**

Tabla 10

Determinación por el método potenciómetro la acidez titulable.

Equipos	Materiales	Reactivos	Muestra
Balanza analítica	Mortero y pistilo	Agua destilada	Vegetales de IV
Potenciómetro	Matraz de Erlenmeyer	NaOH 0.1 N	gama
Agitador magnético	Matraz aforado		
Cocineta	Vasos precipitación		
	Espátula		
	Papel filtro		
	Probeta		
	Bureta		
	Soporte universal		

- **Determinación de pH**

Tabla 11

Recursos empleados en la determinación de pH.

Equipos	Materiales	Reactivos	Muestra
Balanza analítica	Mortero y pistilo	Agua destilada	Vegetales de IV
Potenciómetro			Gama

Equipos	Materiales	Reactivos	Muestra
Plancha de agitación	Espátula Vasos precipitación Probeta		

- **Determinación de humedad**

Tabla 12

Determinación del contenido de humedad y materia seca.

Equipos	Materiales	Muestra
Balanza analítica	Mortero y pistilo	Vegetales de IV
Estufa, con regulador de temperatura	Espátula Crisol de porcelana	Gama
Desecador, provisto de silicagel	Pinza Lápiz	

- **Determinación de cenizas**

Tabla 13

Determinación del contenido de cenizas.

Equipos	Materiales	Muestra
Balanza analítica	Mortero y pistilo	Vegetales de IV
Estufa, con regulador de temperatura	Espátula	Gama
Mufla con regulador de temperatura	Crisol de porcelana	
Desecador, provisto de silicagel	Pinza	
	Lápiz	

- **Determinación microbiológica**

Tabla 14

Recursos empleados en la determinación microbiológica de E.Coli, C. coliformes, Salmonella y Enterobacterias.

Equipos	Materiales	Reactivos	Muestra
Balanza	Mortero y pistilo	Peptona 1g/L	Vegetales de IV
Estufa	Espátula	Agua destilada	Gama

Equipos	Materiales	Reactivos	Muestra
Cámara de flujo laminar	Gradilla		
Plancha de calentamiento	Tubos de ensayo		
Agitador magnético	Lámpara de alcohol		
Agitador vortex	Marcador		
Incubadora	Micropipeta		
	Puntas		
	Papel Limpión		
	Petriefilm <i>E. Coli</i>		
	Petriefilm <i>Coliformes</i>		
	Petriefilm <i>Salmonella</i>		
	Petriefilm		
	<i>Enterobacterias</i>		

1.14. Métodos

1.14.1. Fermentación del mosto de maracuyá

- Se recolectaron del campo frutas frescas de maracuyá tanto de la variedad amarilla como purpura.
- En el laboratorio se procedió a lavar la fruta con ácido cítrico (2 g/100mL).
- Los materiales que se emplearon para la trampa de agua fueron previamente esterilizados.

- El mosto recolectado (500 cc), fue embazado en botellas de vidrio de 1 L para la fermentación a temperatura ambiente por 72 hora.
- Luego se preparó diluciones seriadas de agua peptona (10^{-3}), para obtener alícuotas de la muestra.

1.14.2. Siembra para la obtención de bacterias ácido lácticas

- Con las muestras de la fermentación se realizó duplicados para cada una de las variedades, para lo cual se tomó una alícuota de 0,1 mL de la dilución (10^{-3}) y se extendió sobre la superficie del medio agar MRS con concentración (67,15 g en 1000mL).
- Se incubó a 37°C por 48 horas en condiciones anaeróbicas.

1.14.3. Caracterización morfológica de los aislados de BAL

- Del crecimiento de bacterias se procedió a tomar una muestra, para la caracterización morfológica de bacterias (luego de ser incubadas a 37°C por 48 horas).
- Para ello se realizó Tinción Gram y se observó en el microscopio con aumento de 100 x.
- Tinción Gram. Se incrementó una gota de agua destila al portaobjeto y con el asa se recolectó, muestras de colonias de las placas de Petri
- Se fijó la muestra usando la lámpara de alcohol y se dejó secar.
- Una vez, seca la muestra se aplicó la técnica de tinción, en la cual se usó una serie de reactivos en la cual se añadió 2 gotas de Cristal violeta por 15 segundos (seg), se lavó con agua destilada y se fijó en la lámpara de alcohol, se agregó 2 gotas de Lugol por 15 seg.

- Se lavó con agua destilada y fijó en la lámpara de alcohol, se agregó 2 gotas de Alcohol cetona por 15 seg,
- Luego se lavó con agua destilada y fijó en la lámpara de alcohol, y añadió 2 gotas de Safranina por 15 seg.,
- Se lavó con agua destilada y fijó en la lámpara de alcohol.
- Finalmente se utilizó 1 gota de aceite de inmersión, para la observación utilizando el lente de 100x del microscopio.

1.14.4. Recuento UFC y densidad óptica de las bacterias ácido lácticas, aerobios, mohos y levaduras.

- Del crecimiento bacteriano generado en el mosto de las dos variedades de maracuyá, previamente conservado e inoculado en 20 mL de agar MRS, en las placas de Petri.
- Se tomó una muestra con el asa y diluyó, en soluciones seriadas de agua peptona ($10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}$).
- Se sembró una alícuota de 1mL (10^{-2}) en láminas de petrifilm de ácido láctico, incubado a 38°C por 48 horas, una alícuota de 1mL (10^{-2}) en láminas de petrifilm de mohos y levaduras, incubado a 25°C, temperatura ambiente, de 3 a 5 días, y una alícuota de 1mL (10^{-4}) en láminas de petrifilm de aerobios, incubado a 38°C por 48 horas.
- Para el conteo de unidades formadoras de colonias por mL (UFC/mL) se empleó la siguiente ecuación:

$$(\text{UFC/ml}) = \# \text{ Colonias} \times \text{Factor dilución} / \text{Volumen inoculado en la placa}$$

1.14.5. Obtención de bacterias ácido lácticas, purificación o repique

- Se colocó en 20 mL de medio de agar MRS con concentración (67,15 g en 1000mL) para el crecimiento de colonias de bacterias ácido lácticas.
- De las muestras de la siembra conservadas en refrigeración, con un asa bacteriológica se recolectó la muestra y repicó el aislamiento por estría en la superficie del medio agar MRS.
- Se incubó a 37°C por 48 horas en condiciones anaeróbicas. Este proceso se realizó hasta obtener colonias purificadas 4 aislamientos consecutivos cada tres días.
- De las colonias purificadas se envió, dos muestras de cada variedad de maracuyá, para realizar una secuenciación de 16 S rRNA, en el Laboratorio Humanizing Genomics macrogen.

1.14.6. Multiplicación de BAL en caldo de agar Broth

- Para la multiplicación de BAL en un Matraz Erlenmeyer se preparó un Medio Agar Broth con 27.57g/ 500 mL de agua destilada.
- De las colonias purificadas y conservadas en refrigeración.
- Con asa bacteriológica se recolectó tres veces de la muestra de colonias de BAL contenidas en caja de Petri y se inoculó en el caldo de Medio Agar Broth contenido en el matraz.
- Se incubó por 24 horas a 37°C.

1.14.7. Concentrado de BAL Preparación de bioconservante

- El caldo en medio agar Broth, se colocó en tubos de ensayo y se centrifugó a 10.000 Rpm por 15 min, se botó el líquido y trabajo con el sedimento.

- Para la obtención del concentrado de BAL y la preparación de bioconservante, se procedió a preparar una solución tampón de ácido cítrico con 24,40 gr/1270 mL de agua destilada, y citrato de sodio 18,34 gr/ 730 de agua destilada.
- El lavado de los tubos se realizó con 5 mL de la solución y se centrifugó a 10.000 Rpm por 15 min.
- Se procedió a lavar por 3 veces hasta que quede claro.
- En el tercer lavado se conserva el concentrado con el ácido cítrico y citrato de sodio.
- Se obtuvo el concentrado de bioconservante, en el cual se procedió a medir la absorbancia, del concentrado A0 midió la absorbancia 1,99 y la concentración A1 la absorbancia midió 1.
- Finalmente, se almacenó en frascos ámbar.

Tabla 15

Concentraciones soluciones libre de células (SLC) del bioconservante.

Medida de absorbancia de BAL	Concentración (UA/mL)
en Solución tampón	
A0: 1.99	A0: 1.12×10^{-12}
A1: 1	B1: 1×10^{-8}

1.14.8. Determinación de absorbancia

- Para la determinación de este parámetro se utilizó el equipo Espectrofotómetro termo Espectrónico Genesys 10 Uv/vis.

- Se tomó una muestra en el cuarzo a 550 nm.

1.14.9. Determinación del pH

- Se fraccionó y trituró en partes pequeñas la muestra de vegetales col, pepino y palmito (IV gama) aproximadamente 25 g y transfirió a un matraz Erlenmeyer, luego se añadió 50 cm³ de agua destilada caliente y se mezcló las muestras hasta obtener un líquido de aspecto uniforme.
- Se acopló el condensador de reflujo en el matraz Erlenmeyer y calentó las muestras de vegetales en el baño maría de agua hirviendo durante 30 min; enfrió y transfirió el contenido a un matraz volumétrico de 250 cm³, diluyendo a volumen con agua destilada previamente hervida y enfriada.
- Se mezcló perfectamente y filtró. La determinación debe realizarse por duplicado sobre la misma muestra preparada.
- Se colocó en un matraz volumétrico de 25 a 100 cm³ la muestra preparada.
- Finalmente, se procedió a tomar al pH con un potenciómetro.

1.14.10. Determinación de Acidez

- La muestra de vegetales de IV gama se fraccionó en partes pequeñas y trituró la muestra en el mortero y pesó aproximadamente 25 g, en balanza digital con aproximación al 0,01 g.
- Se continuó mezclando y ablandó la muestra en un mortero.
- Se pesó 25 g de muestra y transfirió a un matraz Erlenmeyer, añadiendo 50 cm³ de agua destilada caliente; lo cual se mezcló convenientemente hasta obtener un líquido de aspecto uniforme.
- Se acopló el condensador de reflujo en el matraz Erlenmeyer y calentar en el baño de agua hirviendo durante 30 min; enfriar y transferir el contenido a un matraz

volumétrico de 250 cm³, diluyendo a volumen con agua destilada previamente hervida y enfriada.

- Se procedió a mezclar perfectamente y filtrar la muestra, la determinación se realizó por duplicado sobre la misma muestra preparada.
- Se comprobó el funcionamiento correcto del potenciómetro utilizando la solución reguladora de pH conocido, lavando el electrodo de vidrio varias veces con agua destilada hasta que la lectura del pH sea de aproximadamente 6.
- Se colocó en un matraz volumétrico de 25 a 100 cm³ (volumen de la alícuota) de la muestra preparada, según la acidez esperada, y sumergió los electrodos en la muestra.
- Se añadió rápidamente de 10 a 50 cm³ de la solución 0,1 N de hidróxido de sodio, agitando hasta alcanzar pH 6, determinado con el potenciómetro, luego añadiendo lentamente la solución de 0,1 N de hidróxido de sodio hasta obtener pH 7; luego se adicionó la solución de 0,1 N de hidróxido de sodio, en cuatro gotas por vez, registrando el volumen de la misma y el pH obtenido después de cada adición, hasta alcanzar pH 8,3 aproximadamente.
- Por interpolación, se estableció el volumen exacto de solución de 0,1 N de hidróxido de sodio añadido, correspondiente al pH 8,1.
- Se calculó con la siguiente fórmula la acidez titulable.

$$A = \frac{V1 \cdot N1 \cdot M}{V2}$$

Siendo:

A = g de ácido por 100 g de producto.

$V_1 = \text{cm}^3$ de NaOH usados para la titulación de la alícuota.

$N_1 =$ normalidad de la solución de NaOH.

$M =$ peso molecular del ácido considerado como referencia (Anexo 1).

$V_2 =$ volumen de la alícuota tomada para el análisis.

1.14.11. Determinación de humedad

- Se procedió a calentar el crisol de porcelana durante 30 min, en la estufa, en donde se colocó la muestra, dejando enfriar a temperatura ambiente y luego se pesó.
- Se homogenizó la muestra de cada uno de los vegetales los cuales fueron col, pepino y palmito (IV gama) y pesó 2 g, en la balanza con aproximación al 0,1 mg.
- Luego se llevó a la estufa a 130°C por dos horas o 105°C por 12 horas.
Transcurrido este tiempo se sacó y dejó enfriar en el desecador por media hora, luego se pesó el crisol más la muestra después del secado.
- Se calculó el % de humedad con la siguiente formula.

$$W_2 - W_1$$

$$1 \quad \% \text{ MS} = 100 - H T$$

H T = Humedad

$$\% H = \frac{W_2 - W_1}{W_0} \times 100 \quad \text{Total}$$

MS = Materia

W_0 Seca

$W_0 =$ Peso de la muestra

(gr.)

$W_1 =$ Peso del crisol más la muestra después del secado

W2 = Peso del crisol más la muestra antes del
secado

1.14.12. **Determinación de cenizas**

- Se lavó cuidadosamente y secó el crisol de porcelana en la estufa ajustada a 100°C durante 30 minutos.
- Dejando enfriar en el desecador y pesar con aproximación al 0,1 mg. Sobre el crisol se pesó con aproximación al 0,1 mg aproximadamente 2 gr de muestra de los vegetales col, pepino y palmito (IV gama).
- Se colocó el crisol con su contenido cerca de la puerta de la mufla abierta y mantuvo allí durante unos pocos minutos, para evitar pérdidas por proyección de material que podrían ocurrir si el crisol se introduce directamente en la mufla.
- Se implantó el crisol en la mufla a $600 \pm 2^\circ\text{C}$ hasta obtener cenizas libres de partículas de carbón (esto se obtiene al cabo de 3 horas).
- Se sacó el crisol con las cenizas, dejando enfriar en el desecador y pesó con aproximación al 0,1 mg.
- Se calculó el % de ceniza con la siguiente formula.

$$C = \frac{W_2 - W_1}{W_0} \times 100$$

Donde:

W₀ = Peso de la muestra (gr.)

W₁ = Peso del crisol vacío

W2 = Peso del crisol más la muestra calcinada

1.14.13. Determinación microbiológica de petrifilm específicos

- Se preparó, fraccionó en partes pequeñas y trituró en un mortero la muestra de vegetales de IV gama.
- Se preparó una solución de peptona (1 g/L) al 5% y se añadió 9 ml de la solución en cada tubo de ensayo.
- Se realizaron diluciones de las muestras de 10^{-1} , 10^{-2} , con 1 ml de la misma.
- Se mezcló en vórtex a cada tubo de ensayo con solución de peptona y muestra.
- En condiciones asépticas, se colocó 1 ml de la muestra en Petrifilm de *E. coli*, *Coliformes*, *Salmonella* y enterobacterias.
- Posteriormente a ello se incubó los Petrifilm durante 48 horas a una temperatura de 38°C.
- Con el contador de colonias, se determinó la cantidad de UFC de cada muestra. El número de microorganismos se calculó mediante la siguiente ecuación:

$(\text{UFC/ml}) = \# \text{ Colonias} \times \text{Factor dilución} / \text{Volumen inoculado en la placa}$

Donde:

n= número de colonias por placa

f= factor de dilución

v= volumen inoculado en la placa

1.15. Diseño experimental

1.15.1. Factores del experimento

Tabla 16

Factores y niveles por probar en el estudio de la caracterización del mosto de maracuyá de las dos variedades, concentración de BAL y aplicación en vegetales de IV gama.

Factores	Niveles
Concentración de bioconservante (A):	a ₁ = concentración 1
	a ₂ = concentración 2
Vegetales mínimamente procesados (B): (IV Gama)	b ₀ = col
	b ₁ = pepino
	b ₂ = palmito

1.15.2. Tratamientos a comparar

Tabla 17

Tratamientos a comparar en el estudio de la caracterización del mosto de maracuyá de las dos variedades, concentración de BAL y aplicación en vegetales de IV gama.

N° de Tratamientos	Tratamientos	Combinaciones
T1	$a_0 b_0$	Concentración 1 + col
T2	$a_0 b_1$	Concentración 1 + pepino
T3	$a_0 b_2$	Concentración 1 + palmito
T4	$a_1 b_0$	Concentración 2 + col
T5	$a_1 b_1$	Concentración 2 + pepino
T6	$a_1 b_2$	Concentración 2 + palmito

1.15.3. Tipo de diseño

Se empleó un esquema $a \times b$, (2 x 3), un diseño completamente al azar DBCA.

1.15.4. Repeticiones

El estudio se conformó de tres repeticiones por tratamiento, obteniendo un total de 18 unidades experimentales.

1.15.5. Análisis estadístico

- **Esquema de análisis de varianza**

Tabla 18

Esquema de análisis de varianza para el estudio de la caracterización del mosto de maracuyá de las dos variedades, concentración de BAL y aplicación en vegetales de IV gama.

Fuente de Variación	Grados de libertad
Concentraciones de bioconservante	$(a - 1) = 1$
Vegetales de (IV Gama)	$(b - 1) = 2$
Interacción A x B	$(a - 1) \times (b - 1) = 2$
Replica	$(r - 1) = 2$
Error	$(a \times b \times r - 1) - (r - 1) - (a - 1) - (b - 1) - [(a - 1) \times (b - 1)] = 10$
Total	$(a \times b \times r - 1) = 17$

- **Análisis funcional**

En las variables, cuyos análisis de varianza resultaron significativos se realizó la prueba de significancia de Tukey al 5%.

Capítulo IV

Resultados

1.16. Determinación del rendimiento mediante balance de materiales

La tabla 19 y 20 detalla los valores de la determinación del rendimiento del mosto de maracuyá variedad amarilla y morada mediante el balance de materiales, a partir de la fruta fresca se obtuvo los 500 g requeridos para la fermentación y aislamiento de BAL.

Tabla 19

Rendimiento mediante el balance de materiales mosto de maracuyá variedad amarilla.

N° frutas	Peso total fruta (g)	Peso de cascara (g)	Peso de semilla (g)	Mosto (ml)
1	206,8	118	55,4	33,4
2	281,6	136,2	45,3	100,1
3	183	112,7	28,3	42
4	240,3	157,9	32,67	49,73
5	240,93	123,45	49,74	67,74
6	148	72	23,8	52,2
7	322,7	202,3	43,7	76,7
8	162,2	103,9	17,4	40,9
9	180	89,6	23,1	67,3
				530,07

Tabla 20

Rendimiento mediante balance de materiales mosto de maracuyá variedad morada.

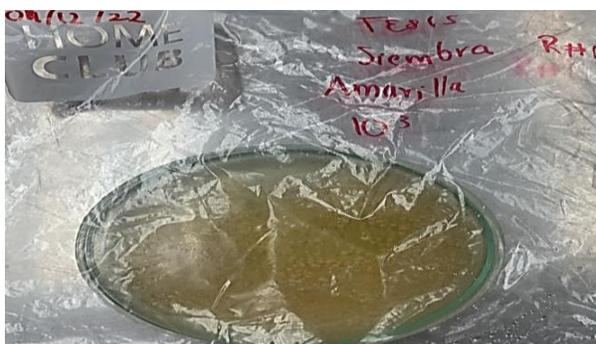
N° frutas	Peso total fruta (g)	Peso de cascara (g)	Peso de semilla (g)	Mosto (ml)
1	187,4	95,7	19	72,7
2	190,9	90,9	25,8	74,2
3	157,6	95,9	18,2	43,5
4	168	76,8	19,7	71,5
5	228,7	135,3	25,3	68,1
6	236,3	157,7	30,9	47,7
7	264,8	169,3	18,6	76,9
8	269,7	157,9	35,3	76,5
				531,1

1.17. Aislamiento de bacteria ácido láctica del mosto de jugo de maracuyá

La figura 5 nos presenta la presencia de colonias de BAL presentes en el mosto de jugo de maracuyá.

Figura 5

Aislamiento de bacteria ácido láctica del mosto de jugo de maracuyá.



1.18. Análisis fisicoquímicos del mosto de jugo de maracuyá, considerando dos variedades

La tabla 21 especifica los valores del análisis fisicoquímicas realizado al mosto de maracuyá de las dos variedades previa a la fermentación para la obtención de BAL.

Tabla 21

Análisis fisicoquímicos del mosto de jugo de maracuyá, considerando dos variedades.

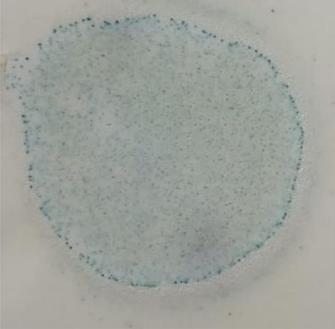
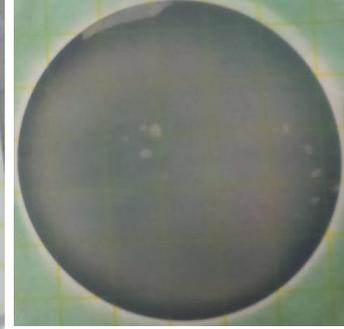
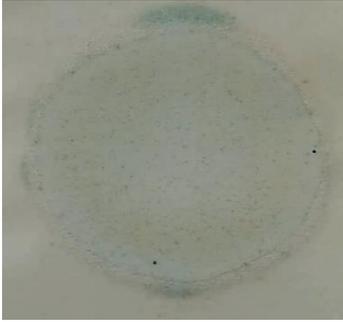
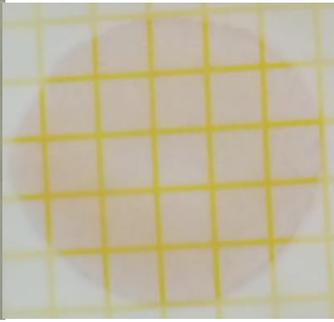
Maracuyá	pH	acidez	absorbancia	°Brix
amarilla	3,05	0,497	3.33	11
morada	3,12	0,409	3.18	14

1.19. Propiedades microbiológicas mosto de jugo de maracuyá fermentado, considerando dos variedades

La caracterización microbiológica se muestra en la tabla 22, obtenida del mosto de jugo de maracuyá fermentado. Es un jugo seguro de consumo ya que se realizó llevando los estándares de estricta higiene para su obtención nos demuestra un bajo contenido en los petrifilm de Aerobios, Mohos y Levaduras, (algunos alimentos que contiene altos niveles de enzimas pueden causar un color azul uniforme en el fondo). Adicionalmente cuando las colonias son muy numerosas para contar (MNPC) variedad amarilla, en el petrifilm de ácido lácticas en la variedad morada si se observó con distinción el crecimiento de colonias asegurando la presencia de bacterias ácido lácticas (los datos fueron tomados a los 7 días de conservación de los vegetales).

Tabla 22

Propiedades microbiológicas mosto de jugo de maracuyá fermentado, considerando dos variedades.

	Mohos y Levaduras	Aerobios	Ácido lácticas
Variedad amarilla	 3E-4 UFC/ml	 0 E-2 UFC/ml	 MNPC
Variedad morada	 2E-4 UFC/ml	 2E2 UFC/ml	 8E2 UFC/ml

1.20. Identificación de los aislados BAL

1.20.1. Caracterizaciones morfológicas de colonias de BAL, considerando dos variedades

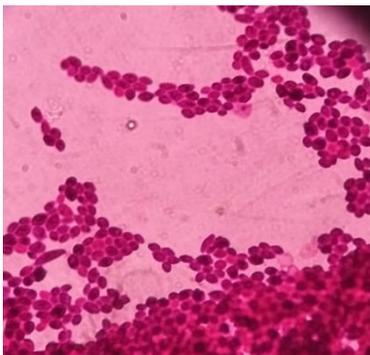
1.20.1.1. Tinción Gram

De las colonias cultivadas en el medio de agar MRS, se seleccionaron aquellas colonias que miden de 1 a 3 mm de diámetro de color blanco cremoso. Luego de realizar

la tinción gram de las colonias aisladas, 4 muestras se observaron en el microscopio óptico e identificadas como gran positivas, de morfología cocos (figura 6).

Figura 6

Morfologías de colonias de BAL en microscopio óptico 100x.



1.20.2. Secuenciación y análisis filogenético de los aislados BAL

En el reporte 16S rRNA de la secuenciación y análisis filogenético de los aislados BAL (figura 7), nos especifica la especie de bacteria de los aislados del mosto de jugo de maracuyá.

Figura 7

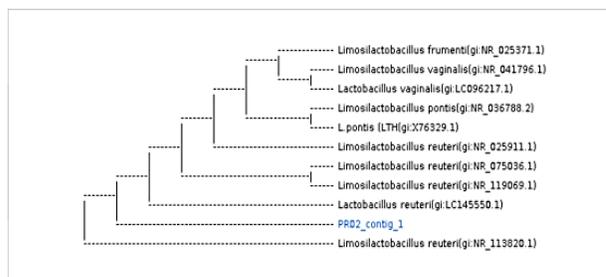
Reporte 16S rRNA de la secuenciación y análisis filogenético de los aislados BAL.

Primer Information

Sequencing Primer Name	Primer Sequences	PCR Primer Name	Primer Sequences
785F 5'	(GGA TTA GAT ACC CTG GTA) 3'	27F 5'	(AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG) 3'
907R 5'	(CCG TCA ATT CMT TTR AGT TT) 3'	1492R 5'	(TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T) 3'

Subject						Score		Identities	
Accession	Description	Length	Start	End	Coverage	Bit	E-Value	Match/Total	Pct.(%)
NR_075036.1	Limosilactobacillus reuteri	1569	11	1522	96	2769	0.0	1508/1512	99

Kingdom	Family	Genus	Species
Bacteria	Lactobacillaceae	Limosilactobacillus	Limosilactobacillus reuteri



1.21. Resultados del estudio estadístico ANOVA DBCA, con arreglo AxB.

1.22. Análisis de Varianza para el pH

Tabla 23

Análisis de Varianza para pH - Suma de Cuadrados Tipo III.

	<i>FV</i>	<i>SC</i>	<i>GI</i>	<i>CM</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES						
A:Concentración UFC/ml	0,04205	1	0,04205	78,03	0,0000	
B:Tipo de vegetales	1,01204	2	0,506022	939,01	0,0000	
C:Replicas	0,000744444	2	0,000372222	0,69	0,5236	
INTERACCIONES						

AB	0,0341333	2	0,0170667	31,67	0,0000
RESIDUOS	0,00538889	10	0,000538889		
TOTAL (CORREGIDO)	1,09436	17			

El análisis de varianza para pH de la tabla 23, muestra diferencia significativa en el factor A (Concentración UFC/ml), Factor B (Tipo de vegetales) e interacción AB (Concentración *Tipo de vegetales). En replicas no se encontró diferencia significativa.

1.23. Análisis de Varianza para Acidez

Tabla 24

Análisis de Varianza para Acidez - Suma de Cuadrados Tipo III.

	<i>FV</i>	<i>SC</i>	<i>GI</i>	<i>CM</i>	<i>Razón- F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES						
A:Concentración UFC/ml	0,0002	1	0,0002	6,00	0,0343	
B:Tipo de vegetales	0,000133333	2	0,0000666667	2,00	0,1859	
C:Replicas	0,000133333	2	0,0000666667	2,00	0,1859	
INTERACCIONES						
AB	0,0004	2	0,0002	6,00	0,0194	
RESIDUOS	0,000333333	10	0,0000333333			
TOTAL (CORREGIDO)	0,0012	17				

El análisis de varianza para acidez de la tabla 24, muestra diferencia significativa en el factor A (Concentración UFC/ml), interacción AB (Concentración *Tipo de

vegetales). En el Factor B (Tipo de vegetales) y replicas no se encontró diferencia significativa.

1.24. Análisis de Varianza para Humedad

Tabla 25

Análisis de Varianza para Humedad (%) - Suma de Cuadrados Tipo III.

<i>FV</i>	<i>SC</i>	<i>G</i>	<i>CM</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
		<i>I</i>			
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Concentración UFC/ml	0,789606	1	0,789606	0,23	0,638
					3
B:Tipo de vegetales	34,2655	2	17,1328	5,10	0,029
					8
C:Replicas	5,13054	2	2,56527	0,76	0,491
					5
INTERACCIONES					
AB	40,3415	2	20,1708	6,00	0,019
					4
RESIDUOS	33,6067	10	3,36067		
TOTAL (CORREGIDO)	114,134	17			

El análisis de varianza para % de Humedad de la tabla 25, muestra diferencia significativa en Factor B (Tipo de vegetales) e interacción AB (Concentración *Tipo de vegetales). En el factor A (Concentración UFC/ml) y replicas no se encontró diferencia significativa.

1.25. Análisis de Varianza para % Materia Seca

Tabla 26

Análisis de Varianza para % MS - Suma de Cuadrados Tipo III.

<i>FV</i>	<i>SC</i>	<i>G</i>	<i>CM</i>	<i>Razón</i>	<i>Valor-</i>
		<i>I</i>		<i>-F</i>	<i>P</i>
EFFECTOS					
PRINCIPALES					
A:Concentración	0,405	1	0,405	0,16	0,6998
UFC/ml					
B:Tipo de vegetales	45,4307	2	22,7154	8,84	0,0062
C:Replicas	4,09204	2	2,04602	0,80	0,4778
INTERACCIONES					
AB	21,81	2	10,905	4,24	0,0463
RESIDUOS	25,7048	1	2,57048		
		0			
TOTAL (CORREGIDO)	97,4425	1			
		7			

El análisis de varianza para % de MS de la tabla 26, muestra diferencia significativa en Factor B (Tipo de vegetales) e interacción AB (Concentración *Tipo de vegetales). En el factor A (Concentración UFC/ml) y replicas no se encontró diferencia significativa.

1.26. Análisis de Varianza para Ceniza

Tabla 27

Análisis de Varianza para Ceniza - Suma de Cuadrados Tipo III.

<i>FV</i>	<i>SC</i>	<i>GI</i>	<i>CM</i>	<i>Razón- F</i>	<i>Valor- P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Concentración UFC/ml	0,00293889	1	0,00293889	0,50	0,4954
B:Tipo de vegetales	1,05354	2	0,526772	89,71	0,0000
C:Replicas	0,00401111	2	0,00200556	0,34	0,7187
INTERACCIONES					
AB	0,00674444	2	0,00337222	0,57	0,5806
RESIDUOS	0,0587222	1	0,00587222		
		0			
TOTAL (CORREGIDO)	1,12596	1			
		7			

El análisis de varianza para % MS (tabla 27), muestra diferencia significativa en el factor B (Tipo de vegetales). En el factor A (Concentración UFC/ml), interacción AB (Concentración *Tipo de vegetales) y replicas no se encontró diferencia significativa.

1.27. Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$) concentraciones UFC/ml (Factor A)

Tabla 28

Prueba de significación de Tukey para concentraciones UFC/ml (Factor A).

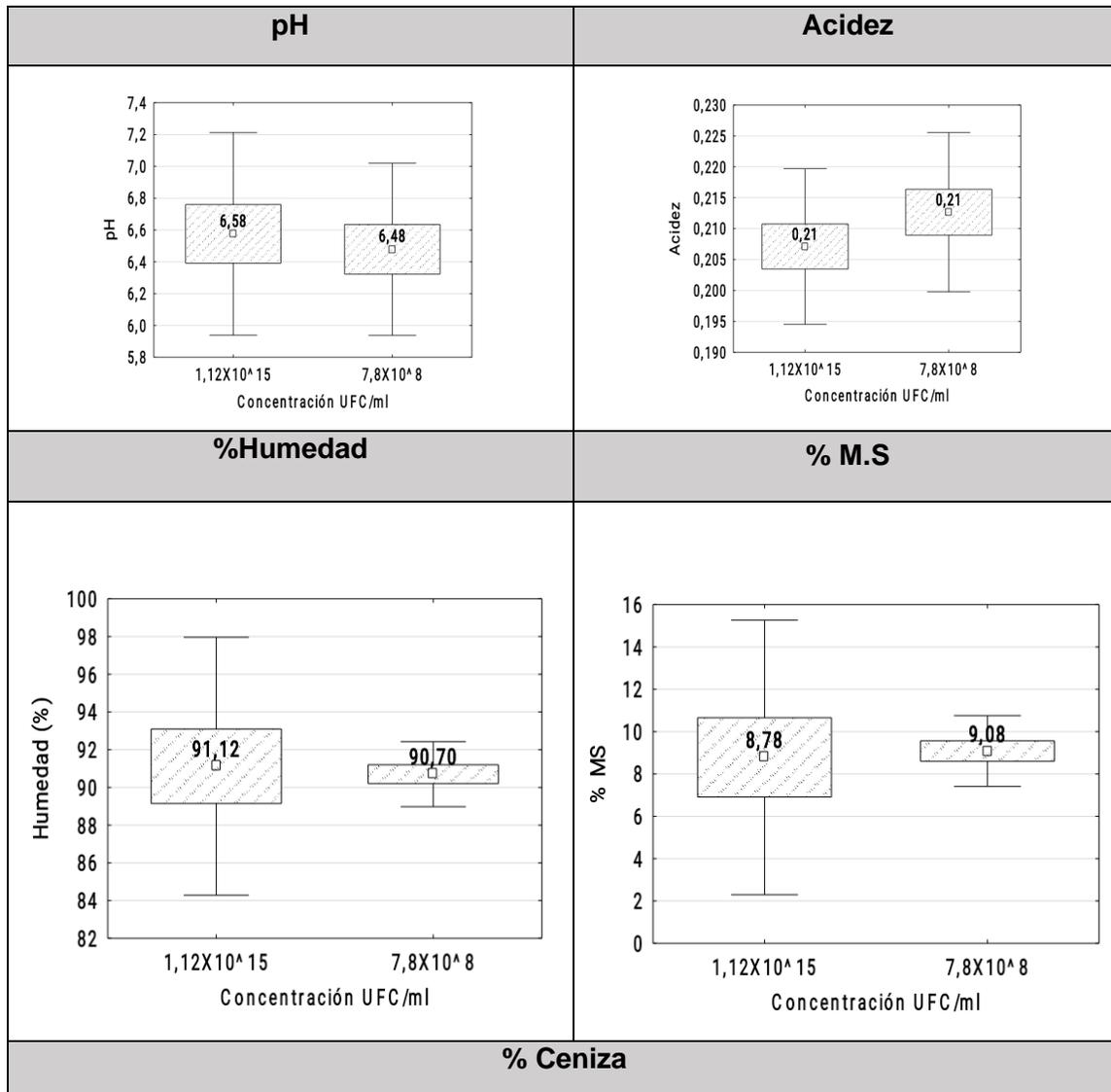
Concentración UFC/ml	pH	Acidez	%Humedad	% M.S	% Ceniza

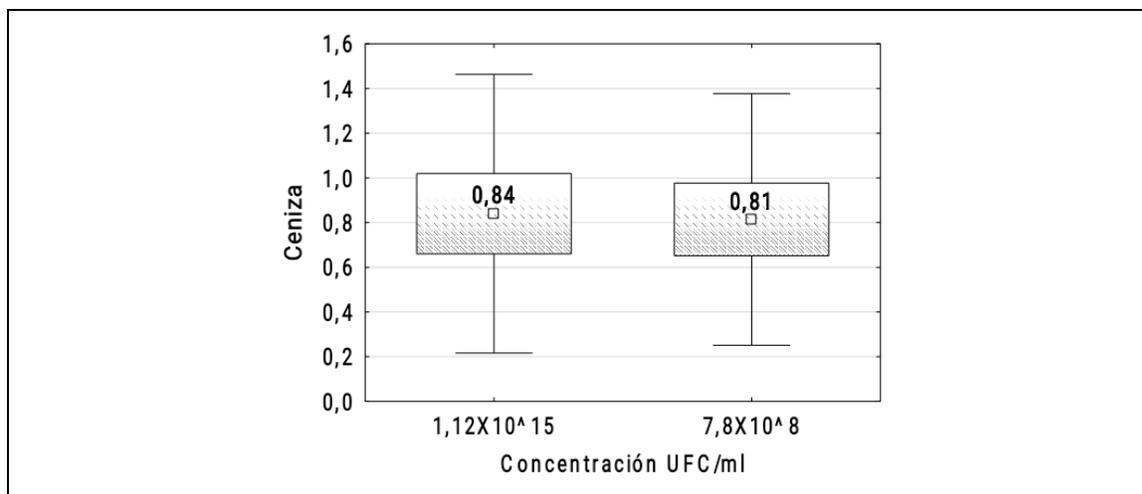
A0: $1,12 \times 10^{15}$	6,58 ^B	0,21 ^A	91,12 ^A	8,78 ^A	0,84 ^A
A1: $7,8 \times 10^8$	6,48 ^A	0,21 ^B	90,70 ^A	9,08 ^A	0,81 ^A

En la tabla 28 y figura 8, se observan los resultados obtenidos de las variables de las pruebas fisicoquímicas a los tipos de vegetales que tuvieron diferencias significativas referentes a las concentraciones UFC/ml.

Figura 8

Prueba de significación de Tukey para concentraciones UFC/ml (Factor A).





1.28. Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$) Tipos de vegetales (Factor B)

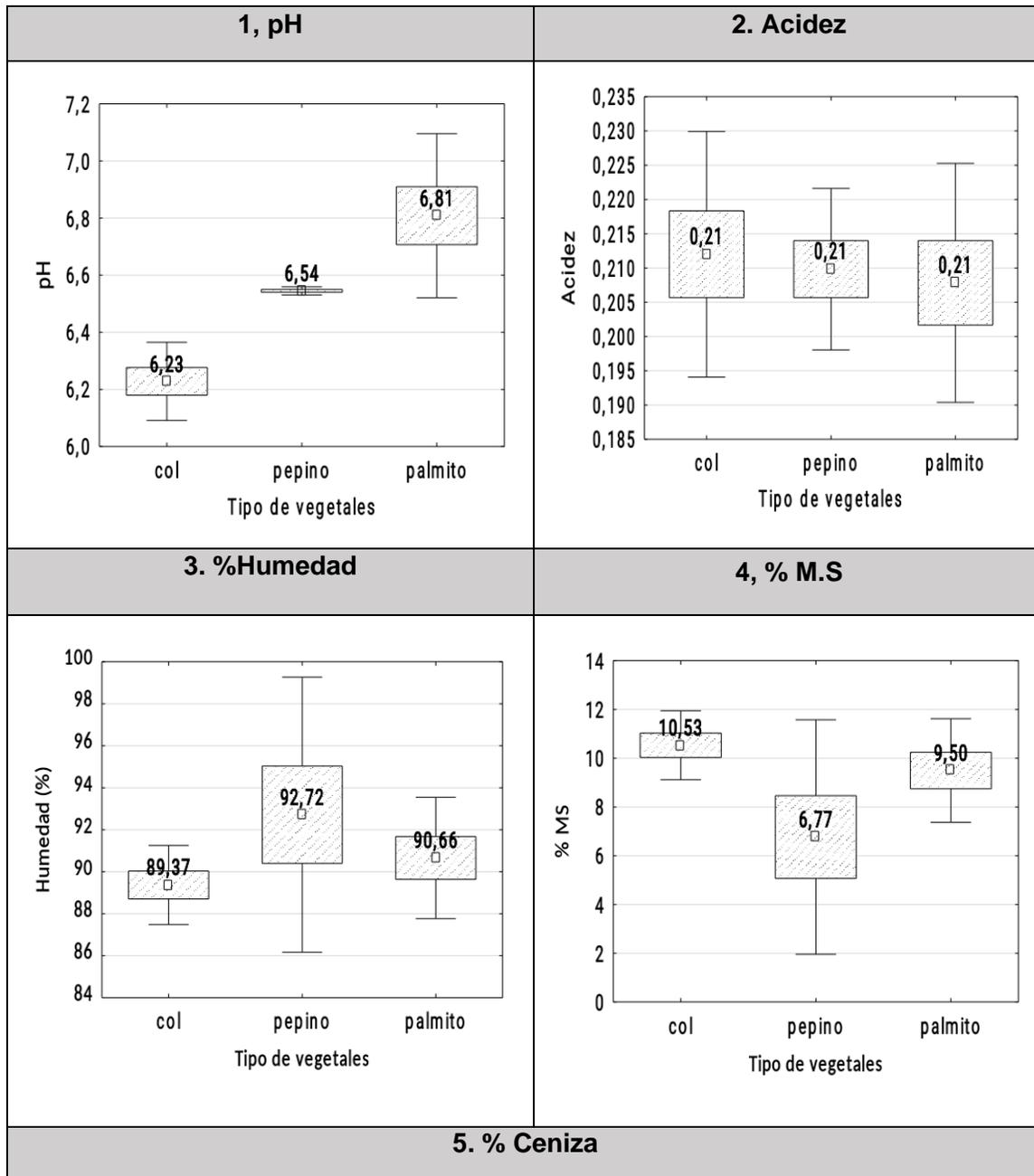
Tabla 29

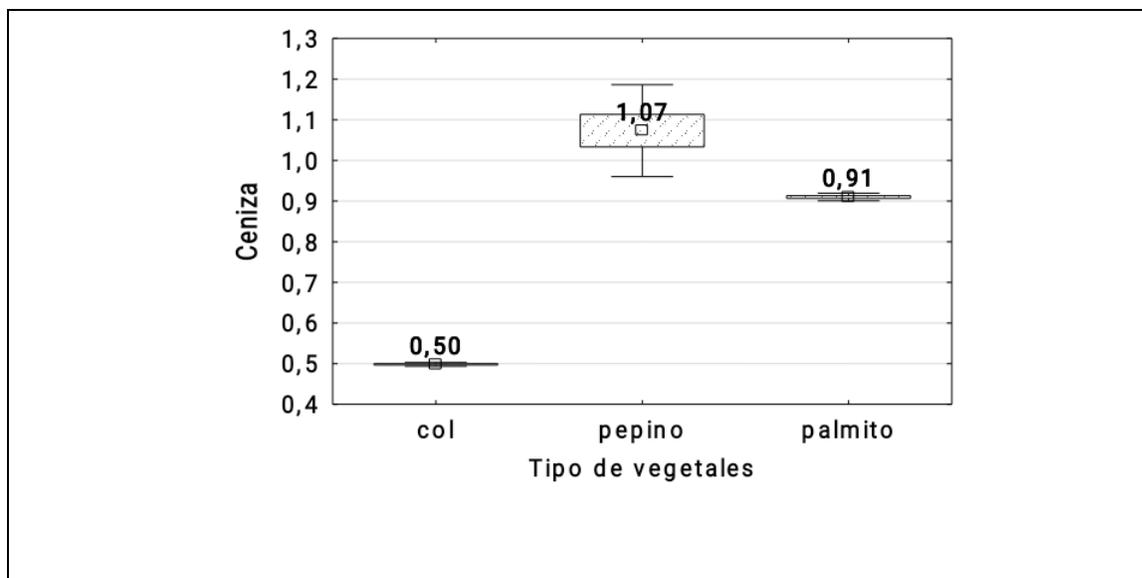
Prueba de significación de Tukey $P < 0,05$ para Tipos de vegetales (Factor B).

Tipos de vegetales	pH	Acidez	%Humedad	% M.S	% Ceniza
B0: Col	6,23 ^A	0,21 ^A	89,37 ^A	10,53 ^B	0,50 ^A
B1: Pepino	6,54 ^B	0,21 ^A	92,72 ^B	6,77 ^A	1,07 ^C
B2: Palmito	6,81 ^C	0,21 ^A	90,66 ^{AB}	9,50 ^B	0,91 ^B

Figura 9

Prueba de significación de Tukey para Tipos de vegetales (Factor B).





En la tabla 29 y figura 9 se puede apreciar: en cuanto a pH, tres grupos independientes col con valor de 6,23 (grupo A), pepino con un pH de 6,54 (grupo B) y palmito 6.81(grupo C); en cuanto acidez, los tres grupos son iguales col, pepino y palmito con valor de 0,21 (grupo A); en cuanto a % de humedad, tres grupos independientes grupo col con valor de 89.37 (grupo A), pepino con un % de humedad de 92,72 (grupo B) y palmito 90,66 (grupo AB); en cuanto a % MS, tres grupos independientes grupo col con valor de 10,53 (grupo B), pepino con % MS de 6,77 (grupo A) y palmito 9,50 (grupo B); en cuanto a % de ceniza, tres grupos independientes grupo col con valor de 0,50 (grupo A), pepino con un % de ceniza de 1,07 (grupo C) y palmito 0,91 (grupo B).

1.29. Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$) para concentraciones UFC/ml (Factor A) * Tipos de vegetales (Factor B).

Tabla 30

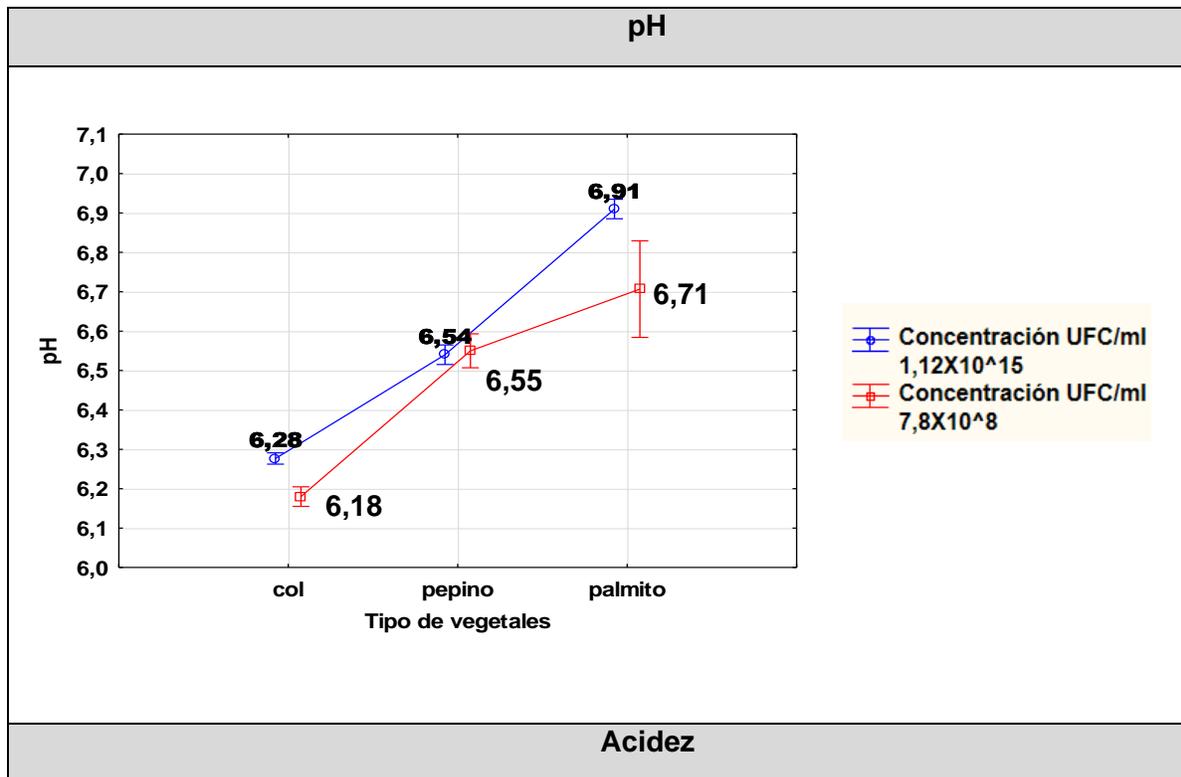
*Prueba de significación de Tukey para concentraciones UFC/ml (Factor A) * Tipos de vegetales (Factor B).*

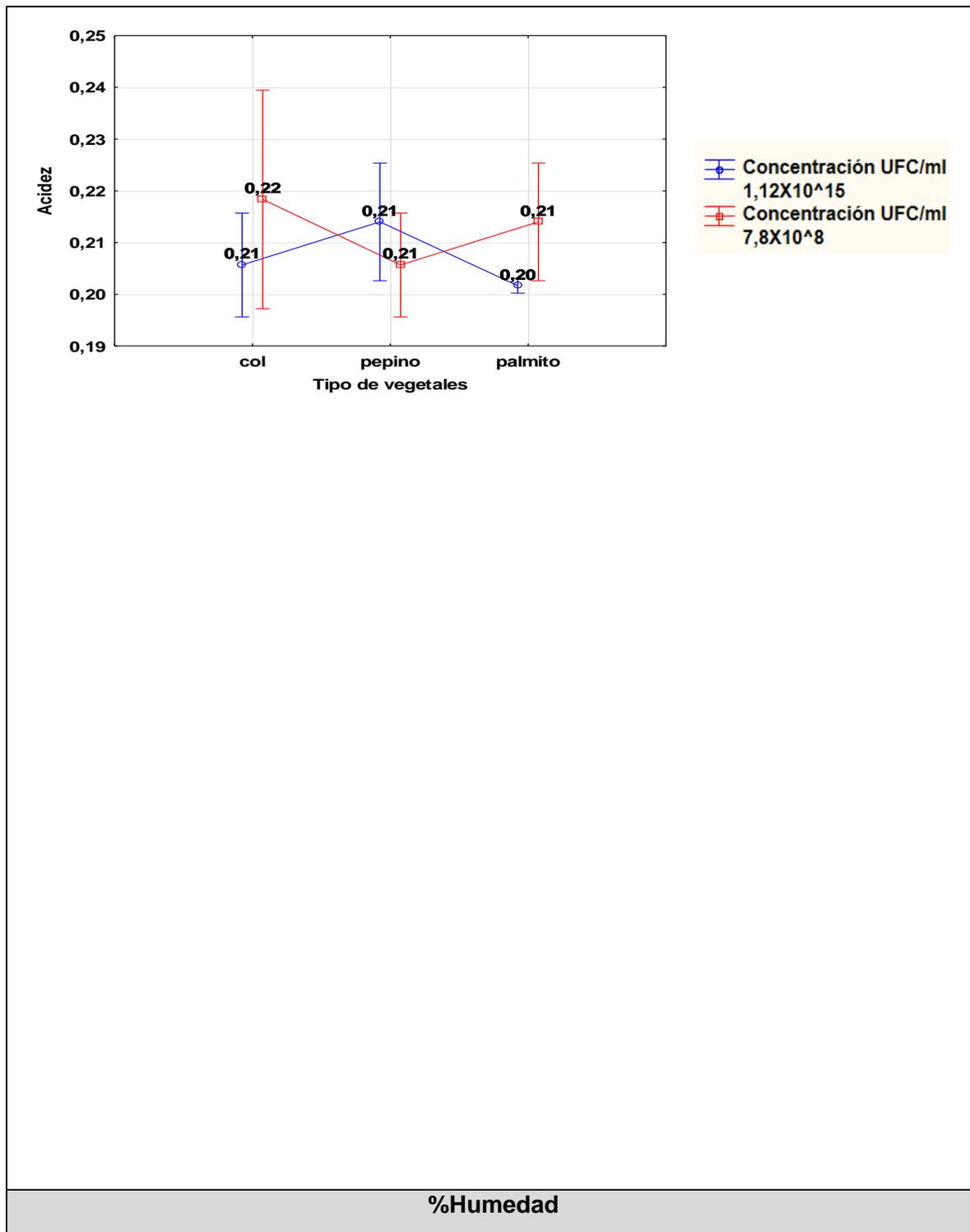
INTERACCIONES	pH	Acidez	%Humedad	% M.S	% Ceniza
a0b0: $1,12 \times 10^{15}$ + Col	6,28 ^B	0,21 ^A	88,70 ^A	11,03 ^B	0,50 ^A
a0b1: $1,12 \times 10^{15}$ + Pepino	6,54 ^C	0,21 ^{AB}	95,03 ^B	5,07 ^A	1,11 ^B
a0b2: $1,12 \times 10^{15}$ + Palmito	6,91 ^E	0,20 ^A	89,63 ^A	10,25 ^B	0,91 ^B
a1b0: $7,8 \times 10^8$ + Col	6,18 ^A	0,22 ^B	90,03 ^{AB}	10,03 ^B	0,50 ^A
a1b1: $7,8 \times 10^8$ + Pepino	6,55 ^C	0,21 ^A	90,40 ^{AB}	8,47 ^{AB}	1,03 ^B
a1b2: $7,8 \times 10^8$ + Palmito	6,71 ^D	0,21 ^{AB}	91,68 ^{AB}	8,75 ^{AB}	0,91 ^B

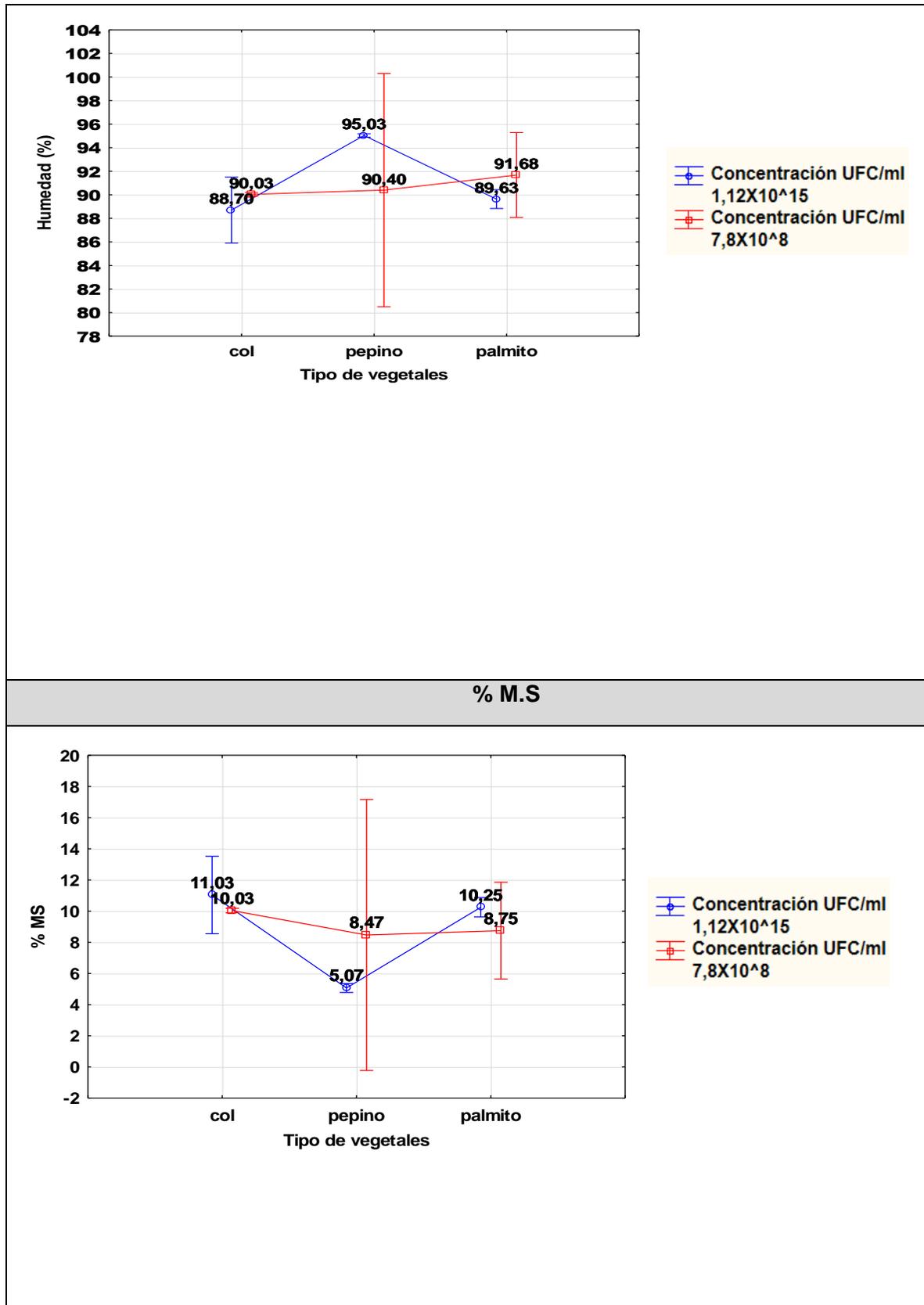
En la tabla 30, se observa los resultados del análisis fisicoquímico para concentraciones UFC/ml (Factor A) * Tipos de vegetales (Factor B), que tuvieron diferencia significativa referente a la interacción de concentraciones UFC/ml (Factor A) * Tipos de vegetales (Factor B).

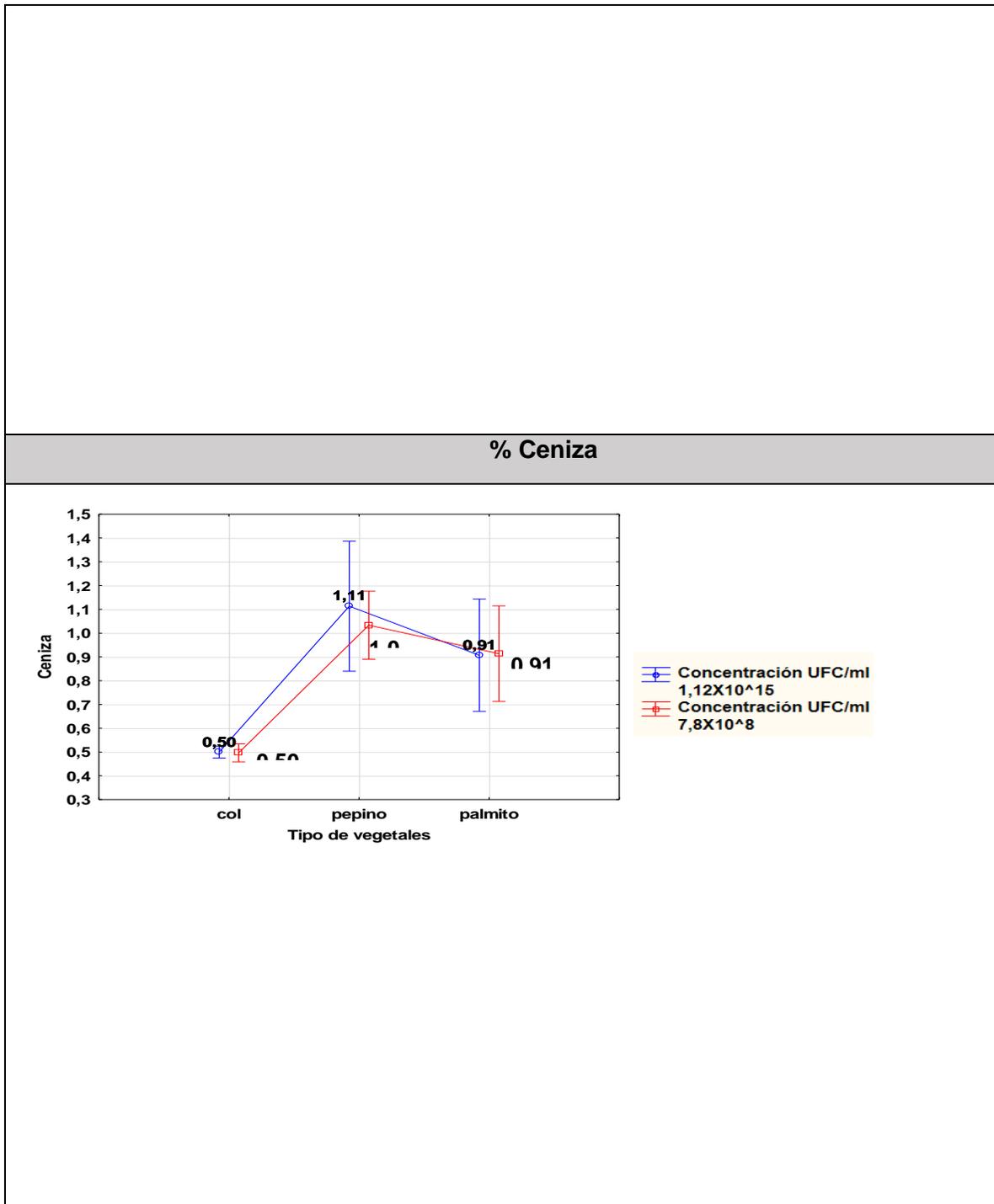
Figura 10

Prueba de significación de Tukey para Ácidos grasos monoinsaturados (Interacción AB).









La figura 10, muestra los valores de Tukey ($p < 0,05$) resumidos de las variables fisicoquímicas correspondientes a la interacción concentración UFC/ml y del tipo de vegetales (Factor AB).

Para lo cual en las interacciones se determinó diferencia significativa en pH: en pH ácido (a0b2:1,12X10¹⁵ + Palmito 6,91 pH) Grupo E, mientras que (a1b0: 7,8X10⁸+ Col 6,18) con pH más bajo(A).

Con respecto al resultado de Acidez se determinó diferencia significativa, en la interacción (a1b0: 7,8X10⁸+ Col 0,22) mayor acidez, mientras que (a0b2:1,12X10¹⁵ + Palmito 0,20) se obtuvo menor acidez.

Al referirse a los resultados de % de humedad se determinó diferencia significativa, con mayor humedad (a0b1: 1,12X10¹⁵+ Pepino 95,03 % de humedad) donde se obtuvo valor menor en (a0b0: 1,12X10¹⁵ + Col 88,70 % de humedad).

En los que respecta a los resultados de % MS se determinó diferencia significativa. En (a0b0: 1,12X10¹⁵ + Col 11,03 % MS) caso contrario ocurrió con (a0b1: 1,12X10¹⁵+ Pepino 5,07 % MS).

Con respecto la interacción entre los factores A (concentración UFC/ml) y B (tipo de vegetales) de los ácidos grasos el mayor contenido se presenta en % de ceniza (a0b1: 1,12X10¹⁵+ Pepino 1,11) mientras que de forma contraria menor % de ceniza (a0b0: 1,12X10¹⁵ + Col, a1b0: 7,8X10⁸+ Col 0,50 de % de ceniza).

1.30. Resultados de análisis de conglomerados en concentraciones UFC/ml (Factor A)

Como se puede observar en la tabla 31, existe mayor homogeneidad en las dos dosis evaluadas cuando el vegetal usado es el palmito, es decir, los vegetales (col y pepino) pueden ser combinados con palmito, sin importar la dosis del bioconservante, y seguir generando resultados favorables. Cabe recalcar, que la combinación que más resalta es la de 3:1,12X10¹⁵ + Palmito y 4:7,8X10⁸ + Col al presentarse una homogeneidad de 0,907.

Tabla 31*Matriz de proximidades*

	1:1,1 2X10 ¹⁵ + Col	2:1,12X 10 ¹⁵ + Pepino	3:1,12X 10 ¹⁵ + Palmito	4:7,8 X10 ⁸ + Col	5:7,8X1 0 ⁸ + Pepino	6:7,8X1 0 ⁸ + Palmito
1:1,12X10 ¹⁵ + Col	,000	76,158	2,056	2,78	9,837	14,445
				7		
2:1,12X10 ¹⁵ + Pepino	76,1 58	,000	56,172	50,1 78	33,034	24,877
3:1,12X10 ¹⁵ + Palmito	2,05 6	56,172	,000	,907	3,902	6,467
4:7,8X10 ⁸ + Col	2,78 7	50,178	,907	,000	3,014	4,807
5:7,8X10 ⁸ + Pepino	9,83 7	33,034	3,902	3,01 4	,000	1,747
6:7,8X10 ⁸ + Palmito	14,4 45	24,877	6,467	4,80 7	1,747	,000

En cuanto a la tabla 32 y figura 11, se puede observar correlación entre el tratamiento 3 (1,12X10¹⁵ + Palmito) y 4 (7,8X10⁸ + Col) con un rango de semejanza de 0,907; seguido por relación que forma el segundo (5:7,8X10⁸ + Pepino y 6:7,8X10⁸ + Palmito), quienes se mantuvieron sobre un coeficiente de relación de 1,747; cabe considerar que dentro de la investigación se generaron cinco grupos, en donde se

confirma la limitada homogeneidad entre los tratamientos 1 (1,12X10¹⁵ + Col) y 2 (1,12X10¹⁵ + Pepino).

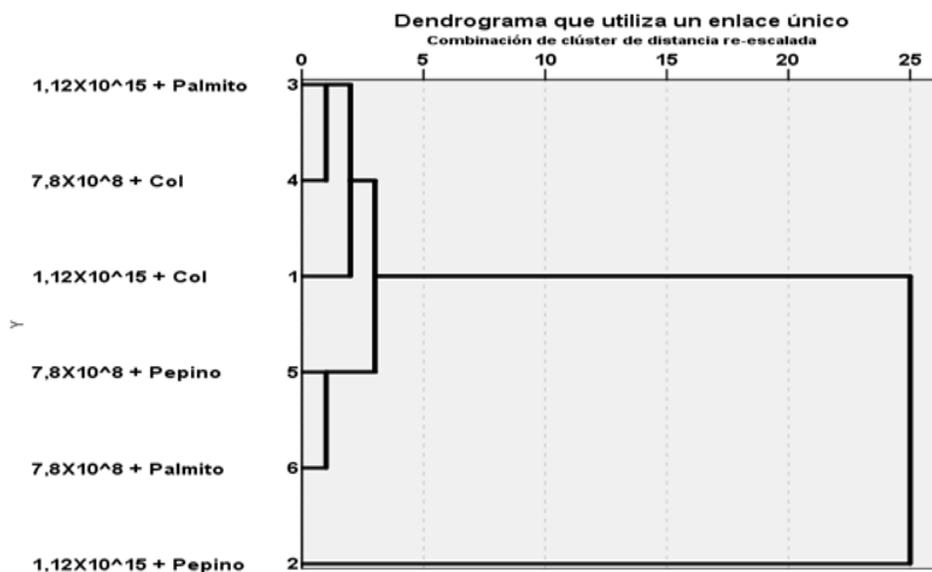
Tabla 32

Primera aparición del Clúster de etapa

Etapa	Clúster combinado			Primera aparición del clúster de etapa		Etapa siguiente
	Clúster 1	Clúster 2	Coefficiente	Clúster 1	Clúster 2	
1	3	4	0,907	0	0	3
2	5	6	1,747	0	0	4
3	1	3	2,056	0	1	4
4	1	5	3,014	3	2	5
5	1	2	24,877	4	0	0

Figura 11

Gráfico del dendograma utilizando un enlace único



1.31. Matriz de correlación de componentes principales concentraciones

Tabla 33

Matriz de correlación de los componentes que conforman las concentraciones.

	pH	Acidez	Humedad	% MS	Ceniza	
		z	d (%)		(%)	
Correlación	pH	1,00	-			
		0	0,498	0,182	-0,174	0,700
	Acidez	-	1,000	0,479	-0,366	-0,163
		8				
	Humedad (%)	0,18	0,479	1,000	-0,972	0,688
		2				

	-				
% MS	0,17	-	-0,972	1,000	-0,766
	4	0,366			
Ceniza (%)	0,70	-	0,688	-0,766	1,000
	0	0,163			

a. Determinante = 6,632E-5

En cuanto a la tabla 34, se logra apreciar que existe una alta correlación entre las variables pH y ceniza al presentar un nivel de correlación de 0,7; seguido de las variables humedad y ceniza, las mismas que conservan una correlación de 0,688; mientras que se asegura una correlación casi nula entre las variables humedad y materia seca (-0,972).

1.32. Concentraciones UFC/ml (Factor A)

Tabla 34

Concentraciones UFC/ml del Factor A.

	Autovalores iniciales	Sumas de cargas al cuadrado de la extracción	Sumas de cargas al cuadrado de la rotación
--	------------------------------	---	---

Componente	Total	% de varianza	% acumulado	Total	% de varianza	% acumulado	Total	% de varianza	% acumulado
1	2,850	56,97	56,97	2,850	56,97	56,97	2,465	49,300	49,300
2	1,781	35,623	92,620	1,781	35,623	92,620	1,350	27,005	76,305
3	0,301	6,0233	98,643	0,301	6,0233	98,643	1,043	21,592	97,898
4	0,067	1,3444	99,987	0,067	1,3444	99,987	0,104	2,089	99,987
5	0,001	0,013	100,000	0,001	0,013	100,000			

Como se observa en la tabla 35, existe mayor varianza en las variables pertenecientes a los componentes 1, 2, 3 y 4, ya que estas logran tener varianzas mayores a 1, lo que genera de forma acumulada una rotación del 99,987%.

1.33. Método de extracción: análisis de componentes principales.

Figura 12

Sedimentación del análisis de componentes principales.



En base a las variables con autovalores mayores a 1, se visualizan en la figura 12; se identificó dos componentes principales que tiene mayor porcentaje de explicación de varianza, de los cuales corresponde a pH y acidez mientras que los tres componentes de las variables evaluadas forman una caída poco inclinada en el gráfico de sedimentación y presentan autovalores menores a 1.

Tabla 35*Matriz de componente^a*

	Componente			
	1	2	3	4
pH	,459	,807	,367	-,061
Acidez	,228	-,903	,356	,082
Humedad (%)	,937	-,314	-,014	-,152
% MS	-,952	,240	,190	,013
Ceniza	,896	,400	-,062	,183

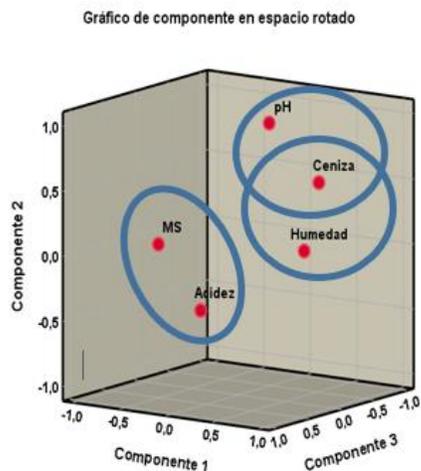
En la tabla 36, se puede observar la distribución existente entre los componentes pertenecientes a las sumas de cargas al cuadrado de la rotación, que mantienen una varianza de los autovalores mayor de uno.

Tabla 36*Matriz de componente.*

Component				
e	1		3	4
1	,911	,378	,138	,085
2	-,184	,680	-,704	,088
3	-,352	,628	,682	-,127
4	-,108	-,013	,139	,984

Figura 13

Gráfico del análisis de componentes principales.



En cuanto a la tabla 37 y figura 13, se puede apreciar que dentro de los 5 componentes evaluados, se observa la formación de tres grupos sobre una semejanza común, en donde el grupo 1 es formado por las variables materia seca (MS) y acidez, mientras que el grupo 2 y 3, se mantienen conformado por el pH - ceniza y humedad – ceniza respectivamente, lo que expresa claramente la vinculación entre las variables evaluadas y la ceniza, lo que asegura la formación de un cuarto grupo en donde se relacione pH – ceniza - humedad.

1.34. Propiedades microbiológicas de los tipos de vegetales

Tabla 37

Propiedades microbiológicas tipos de vegetales.

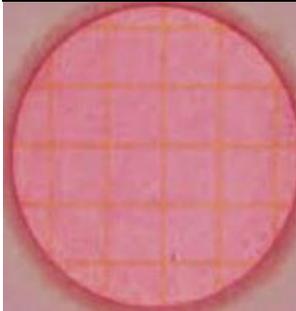
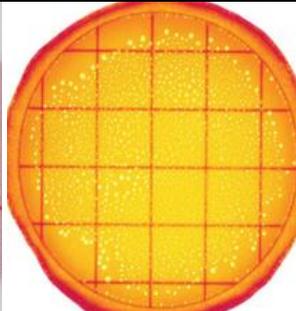
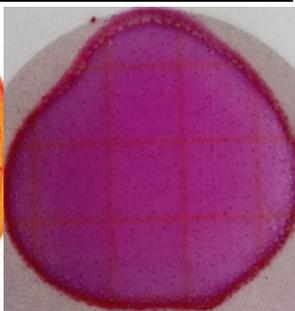
	T1	T2	T3	T4	T5	T6
			0,00E+0	0,00E+0		
AEROBIOS	1,00E-05	6,00E-05	0	0	0,00E+00	3,00E-03
MOHOS Y						
LEVADURA			0,00E+0	0,00E+0		0,00E+0
S	0,00E+00	0,00E+00	0	0	0,00E+00	0

La caracterización microbiológica se muestra en la tabla 38, de los 6 tratamientos de los tipos de vegetales con una dilución de agua peptona de 10^{-5} . Estos vegetales mínimamente procesados son seguro de consumo ya que se realizó llevando los estándares de estricta higiene para su conservación no hubo contenido en los petrifilm de Mohos y Levaduras. Adicionalmente se muestra contenido de colonias en el petrifilm de aerobios.

1.35. Determinación microbiológica de efectividad del bioconservante

Tabla 38

Determinación microbiológica efectividad del bioconservante.

E. coli	Coliformes	Salmonella	Enterobacterias
			
0E-2 UFC/ml	0E-2 UFC/ml	0E-2 UFC/ml	0E-2 UFC/ml

La caracterización microbiológica se muestra en la tabla 39, del mejor tratamiento de los tipos de vegetales con una dilución de agua peptona de 10^{-2} . De la que se comprobó de efectividad del bioconservante en los petrifilm de *E.coli*, Coliformes, *Salmonella* y Enterobacterias. Estos datos se muestrearon a los 12 días de conservación de los vegetales por lo cual no presentaron contaminación en *E. coli* y coliformes.

Capítulo V

Discusión

1.36. Determinación del rendimiento mediante balance de materiales

El rendimiento del mosto de maracuyá variedad amarilla y variedad morada fue de 530,07 g (9 frutas) y de 531,1 g (8 frutas) respectivamente, al generar el balance de materiales, a partir de la fruta fresca, por lo que se afirma que la variedad morada tiene mayor cantidad de pulpa en sus frutas. Cabe considerar, que en el presente ensayo el peso de la pulpa por fruta fue de 58,89 g en la variedad amarilla, y de 66,38 g en la variedad morada.

El rendimiento obtenido sobre la variedad amarilla fue menor, siendo la causa principal el manejo del cultivo, pues Pereira (2015) menciona que el rendimiento de la pulpa por fruta, se mantiene directamente relacionado con el manejo y fertilización del cultivo, a su vez, Brito y Vásquez (2013) mencionan, que con un adecuado plan de fertilización a base de NPK, se permite que la producción, tamaño y pulpa de la fruta sea mayor, según García (2012), al aplicar dos dosis anuales del fertilizante 100-50-80 (Kg/ha/año) de NPK se logra obtener un rendimiento promedio de 63 a 65 gramos de pulpa por fruta.

Lamentablemente no existen datos oficiales de los rendimientos en pulpa de la variedad morada, sin embargo, con la información antes mencionada se puede afirmar que el rendimiento de la variedad morada, es mayor a la variedad amarilla, aun cuando el manejo de la primera sea básico y sin planes específicos de fertilización.

1.37. Análisis fisicoquímicos del mosto de jugo de maracuyá, considerando dos variedades

Los análisis fisicoquímicos realizados al mosto de maracuyá fueron pH (3,05 y 3,12), acidez (0,497 y 0,409), absorbancia (3,33 y 3,18) y grados brix (11 y 14), para la variedad amarilla y la variedad morada respectivamente, al evaluar la obtención de BAL.

En cuanto a la variedad amarilla, la composición fisicoquímica publicada por Aular y Rodríguez (2013), fue de pH 2,8; acidez de 4,7 y grados brix de 14,1 a 15,5; como se puede observar los resultados en la investigación realizada y la del autor antes mencionado, existe una alta variabilidad en cuanto a las variables evaluadas, aun cuando las muestras tomadas para la evaluación fueron en esta fresco, esta variación se considera normal al considerarse la variabilidad intra e interespecífica de las zonas en donde se generó el cultivo (Lucas & Vareles, 2015), ya que la calidad de los frutos se mantienen estrechamente vinculada a las condiciones climáticas, tipo de manejo del cultivo y la edad que mantiene la planta al momento de fructificar, a lo que se le suma, la calidad genética de las semillas utilizadas al momento de la siembra (García, Alvis, & Romero, 2015).

En la maracuyá de variedad morada según De la Cruz, Vargas, Del Ángel, y García (2010), tiende a modificar sus características físicas y químicas dependiendo de la zona donde se cultive y la temperatura de almacenamiento (20 °C), en su investigación se conoció que el rango promedio de pH es 2,9 a 3,5 ± 05, acidez de 2,0 a 3,4± 09 y grados brix de 15,2 a 16,0 ± 2. Frente a los resultados antes mencionados se afirma, que las características fisicoquímicas, de la maracuyá variedad morada tienden a variar, dependiendo si su evaluación es en estado fresco o conservado, siendo el pH la única variable que se mantiene en los rangos promedios establecidos por otros autores, esto como consecuencia de un retraso en la actividad fisiológica al reducir la temperatura, en

busca de alargar el periodo de conservación de la fruta (Macedo, Quoirin, Ayub, Rombaldi, & Silva, 2012).

1.38. Propiedades microbiológicas mosto de jugo de maracuyá fermentado, considerando dos variedades

En la caracterización microbiológica obtenida del mosto de jugo de maracuyá fermentado (3 días de fermentación), en cuanto a mohos y levaduras, fue de $3E-4$ UFC/ml = amarilla y $2E-4$ UFC/ml = morada, en la investigación realizada por Breymann, Chaves, y Arias (2013), al evaluar la presencia de mohos y levaduras a los 3 días de fermentación se tubo una concentración de $7E-4$ UFC/ml (promedio), por lo que se afirma, que el fermentado generado en la presente investigación tiene un efecto favorable para evitar la colonizacion de mohos y levaduras.

Mientras que al evaluar la presencia de aerobios se observó $0 E-2$ UFC/ml = amarilla y $2E2$ UFC/ml = morada, en esta variable de estudio Custode (2015) presentó un recuento aerobio promedio de $5E-4$ UFC/ml, resultado que ubica a la fermentación generada por el bioconservante como una estrategia favorable que beneficia la calidad del producto final.

Por otra parte, al considerar el conteo de colonias en la variedad amarilla se reflejaron colonias muy numerosas para contar (MNPC) es decir, existió alta presencia de colonias, mientras qué, en la variedad morada si se observó distinción en el crecimiento de las colonias ($8E-4$ UFC/ml), en este caso los autores Breymann, Chaves, y Arias (2013) mencionan, que la concentración de colonias de bacterias lácticas a los 3 días de fermentación del jugo de maracuyá, tiende a ser de $2E-4$ UFC/ml, lo que resultó ser menor a la concentración obtenida en la presente investigación, por lo que se afirma que

el mosto de maracuyá obtenido es de consumo seguro (INEN, 2008), sin importar la variedad de maracuyá utilizada.

1.39. Caracterizaciones morfológicas de colonias de BAL, considerando dos variedades

Mediante la tinción Gram, se conoció que las colonias presentes en el mosto fueron identificadas como gran positivas, con morfología cocos, por lo que se afirma la presencia de bacterias ácido lácticas en el mosto de maracuyá, ya que estos organismos se caracterizan por ser Gram positivos, formadores de no esporas, no tienen motilidad, y conservan forma de cocos (Parra, 2010).

Las características presentadas en la tinción Gram realizada, fue validada mediante la confirmación de la secuenciación y análisis filogenético de los aislados, en donde se confirmó la presencia de *Limosilactobacillus reuteri* con una certeza de 99%.

1.40. Concentraciones UFC/ml (Factor A)

La concentración A0 (1,12X10¹⁵) y A1(7,8X10⁸), mostraron un pH de 6,58 y 6,48 respectivamente, lo que mostró diferencias significativas en las variables, así mismo, en la variable acidez existió diferencias entre la concentración A0 (0,21) y A1 (0,21), mientras que en las variables de humedad, materia seca y ceniza no existió diferencias al presentar 91, 12 y 90,70%; 8,78 y 9,08%; y 0,84 y 0,81% respectivamente, entre las concentraciones A0 y A1 consecuentemente.

En cuanto al factor A, no se puede afirmar cual es la mejor concentración para utilizar como un bioconservante, pues no existe un parámetro establecido específicamente para las conservas vegetales utilizando el mosto de una fruta, por otra

parte, se conoce que los conservantes de origen químico, mantienen latente un riesgo para la salud, específicamente cuando se consumen con frecuencia al alterar el sistema inmune de las personas (García, Rodríguez, & Martínez, 2010), mientras que los conservantes de origen biológico, no son capaces de generar daños en los consumidores, es aquí cuando los aditivos biológicos logran tener mejor aceptación sin alterar la calidad nutricional e inocuidad de los alimentos (Cortés, Díaz, & Salgado, 2018).

Considerando lo anteriormente mencionado, se afirma que las dos concentraciones son favorables para la aplicabilidad y elaboración de bioconservantes para la conserva de vegetales, a su vez, se ratifica que la concentración utilizada por el productor en el área alimentaria dependerá de sus necesidades en cuanto a pH, acidez, humedad, materia seca y ceniza.

1.41. Tipos de vegetales (Factor B)

Cabe considerar, que cada vegetal evaluado tiene diversas variedades, por lo cual su contenido nutricional y fisicoquímico conserva una variabilidad (Ramírez, y otros, 2010), por ello, no es factible homogenizar los contenidos de pH, acidez, humedad, materia seca y ceniza, sin embargo, a continuación se muestran las características que obtuvieron los vegetales a los cuales se les aplicó el bioconservante y se brindó el respectivo proceso de conservación.

Dentro de la investigación, se conoció que la col tuvo un pH de 6,23; acidez de 0,21; porcentaje de humedad de 89,37%; materia seca de 6,77% y contenido de ceniza de 0,50%. Según Reyes, Rosas, Campos, Quintero, y Carrillo (2017), la col fresca mantiene una composición nutricional con pH 5,63; acidez 0,03; humedad 92,15%; y contenido de ceniza de 0,71%; como se puede apreciar, la aplicación del bioconservante en este vegetal, permite un lento deterioro de la composición química original, debido a la

estructura del vegetal, pues es más fácil que se deteriore una col que un pepino, principalmente por la concentración y pérdida de agua.

Al considerar el vegetal pepino, este tuvo un pH de 6,55; acidez de 0,21; porcentaje de humedad de 90,66%; materia seca de 10,53% y contenido de ceniza de 1,07%. En cuanto a la variable pH, al mantenerse dentro de una atmósfera modificada por 15 días, el autor Cruz (2016), identificó un pH de 5,75; y una acidez de 0,29; cabe recalcar que en este vegetal, se estima que mientras más alto sea el pH y menor presencia de acidez contenga, mayor será la calidad del mismo.

En cuanto al palmito, este tuvo un pH de 6,81; acidez de 0,21; porcentaje de humedad de 92,72%; materia seca de 9,50% y contenido de ceniza de 0,91%. Según Chaimsohn, Asunción, Mora, y Villalobos (2009), el palmito fresco mantiene una composición de pH 4,31; acidez 0,38; humedad 91,70%; ceniza de 1%. Por los resultados antes expuestos, se afirma que los procesos naturales de deterioro vegetativo, tienden a disminuir cuando se aplica el bioconservante, lo que permite al vegetal generar un alargamiento de su vida útil.

1.42. Interacciones A*B

En lo referente al pH, al combinar la concentración con los vegetales, se conoció que existen pHs bajos (6,18 y 6,28) en las interacciones 7,8X10⁸+ Col y 1,12X10¹⁵ + Col; mientras que existió menor pH (6,71 y 6,91) en las interacciones 7,8X10⁸ + Palmito y 1,12X10¹⁵ + Palmito. En cuanto al pH, es importante recalcar, que este depende del tipo de vegetal al cual se analice, sin embargo, se debe tomar en cuenta, que un pH neutro o cercano a este, tiene mayor facilidad de permitir la proliferación de microorganismo en su estructura (Pilamunga, 2014), por lo cual, en esta investigación, se afirma que la

interacción de las dos concentraciones con palmito son las más favorecidas, luego de aplicar el bioconservante.

Al evaluar la acidez, se confirmó que 1,12X1015 + Col, 1,12X1015 + Palmito; 1,12X1015+ Pepino; 7,8X108+ Pepino y 7,8X108 + Palmito; generaron la misma acidez (0,21), mientras que la interacción 1,12X1015 + Palmito mantuvo diferencia de las restantes muestras al presentar 0,20 de acidez, por otra parte se conoció que la muestra de 7,8X108+ Col generó 0,22 de acidez. Dentro de la literatura actual, no se encuentran rangos de acidez establecidos para este tipo de conservas, sin embargo, se estima que la acidez en la naranja no debe sobre pasar de 0,5 dentro de la norma técnica NTC 3929,2013 (Morejón & Viznay, 2018); por ello, se asume que los vegetales mencionados bajo la influencia del bioconservante son aceptables para el consumo humano. Según Blanco y Carbajal (2013) el aumento de la acidez, ocasiona directamente la pérdida de los valores nutricionales de los alimentos y favorecen la formación de toxinas, las cuales permiten la formación de olores y sabores no apetecibles, a la vez, que se altera el color y textura del alimento, convirtiéndose en un peligro latente para quienes lo consuman (Calderón, Jácome, Reyes, Rojas, & Ramírez, 2017).

Mediante la evaluación de los porcentajes de humedad, se afirma que las interacciones de 1,12X1015 + Col y 1,12X1015 + Palmito son estadísticamente aparentes (88,70 y 89,63% respectivamente) y se establecen como las interacciones con los más bajos niveles de humedad, mientras la interacción 1,12X1015+ Pepino mostró contener el valor más alto de humedad (95,03%), a su vez, las interacciones de 7,8X108+ Col, 7,8X108+ Pepino y 7,8X108 + Palmito, se expusieron como aquellas que no mantienen diferencias entre los valores altos y bajos de humedad (90,03; 90,40 y 91,68%respectivamente). De manera general se puede apreciar que luego de 7 días de conservación, todos los vegetales mantienen un promedio de humedad de 88,70 a 95,03%; cabe resaltar, que el contenido de humedad en las frutas y vegetales frescos se

mantiene entre 80 – 95%, lo que permite evitar el deterioro de la calidad y apariencia del producto, asegurando la preferencia comercial (Genaro, 2012), por ello, se afirma que la calidad de los vegetales utilizados en el presente ensayo es muy alta, a su vez, es importante tomar en cuenta, que la humedad depende de la superficie y peso del vegetal, por ende, cuando estas sean menores existirá mayor potencial de deshidratación (Salinas, González, & Pirovani, 2017), como se puede observar al comprar la humedad en las interacciones de col (menor humedad) y pepino (mayor humedad).

En cuanto a la materia seca, la interacción 1,12X1015+ Pepino presentó los valores más bajos (5,07%), por el contrario, estadísticamente se agrupó a 1,12X1015 + Col, 1,12X1015 + Palmito y 7,8X108+ Col como las interacciones con rangos más elevados de materia seca (11,03; 10,25 y 10,03% respectivamente). Mientras en las interacciones 7,8X108+ Pepino y 7,8X108 + Palmito se afirmó, no tener diferencias estadísticas (8,47 y 8,75% respectivamente); los valores expuestos de materia seca, son un referente para posteriores investigaciones, pues no existe un parámetro estrictamente establecido con rangos aceptables o no, debido a que los contenidos de materia seca se reducen o aumentan dependiendo del vegetal y la madurez que posea este, en el instante que se realiza la evaluación (Dumont, Anrique, & Alomar, 2012).

Ceniza en esta variable, se conoció que existe mayor concentración de ceniza en las interacciones 1,12X1015+ Pepino, 1,12X1015 + Palmito, 7,8X108+ Pepino y 7,8X108 + Palmito al conservar porcentajes de 1,11; 0,91; 1,03 y 0,91% respectivamente, por el contrario, se asume que las interacciones de 1,12X1015 + Col y 7,8X108+ Col, contienen los porcentajes de ceniza más bajas del estudio, al presentar 0,50% en ambos casos. De igual forma que en las variables antes evaluadas, el contenido de ceniza depende del tipo de vegetal y la madurez sobre la cual fue cosechado el vegetal; no obstante, se debe considerar que el contenido de ceniza expone la concentración de minerales en los alimentos, es decir, mientras más alta sea la concentración, mayor cantidad de minerales

poseerá el alimento (Oude, 2012). A su vez, cuando un vegetal deja de estar fresco, este disminuye su contenido de ceniza (Aguirre, y otros, 2019).

1.43. Propiedades microbiológicas de los tipos de vegetales

La caracterización microbiológica de los 6 tratamientos sobre una dilución de agua peptona de 10^{-5} ; al evaluarse las propiedades en aerobios (cantidad de colonias) en T1 = Concentración 1+col fue de $1,00E-05$; T2 = Concentración 1+pepino fue de $6,00E-05$; T3 = Concentración 1+palmito; T4 = Concentración 2+ col y T5 = Concentración 2+pepino conservaron un valor de $0,00E+00$, finalmente el T6 = Concentración 2+palmito tuvo $3,00E-03$. Según la Red Nacional de Laboratorios Oficiales de Análisis de Alimentos (2014), la presencia de aerobios mesófilos refleja la falta de calidad sanitaria de los productos, ya que este indica las condiciones de higiene que posee el dicho producto, a la vez que expresa la inocuidad de la manipulación en la elaboración o procesado del mismo. Por ello se afirma, que un recuento elevado expresa contaminación, deficiente manipulación, probabilidad de patógenos presentes y alteración de la materia prima (Campuzano, Mejía, Madero, & Pabón, 2015). Según (INEN, 2008), $1,00E3$ es el índice máximo permitido para asegurar la calidad en los alimentos, en este caso se confirma, que todos los tratamientos evaluados, mantienen calidad sanitaria, pues reflejaron resultados por debajo del límite establecido.

Mientras que al evaluar la concentración de mohos y levaduras en todos los tratamientos no existió diferencia al tener un valor de $0,00E+00$, es decir no hubo contenido en los petrifilm de Mohos y Levaduras. Como se expone anteriormente, en ninguno de los tratamientos establecidos, hasta los doce días de conservación, no se presentó la presencia de mohos y levaduras, por lo que se asegura que el bioconservante obtenido genera resultados favorables lo que otorga calidad sanitaria al producto, sin importar el tipo de vegetal y la concentración aplicada (Condori, 2014), no se debe olvidar,

que al ser los alimentos perecederos, estos requieren un tratamiento específico de conservación y manejo, para evitar el ataque por parte de microorganismos como bacterias, mohos y levaduras, los que en su momento ocasionan pérdidas en la calidad del producto y por ende complicaciones económicas (Bourgeois, 1989).

1.44. Determinación microbiológica de efectividad del bioconservante

En la caracterización microbiológica con una dilución de agua peptona de 10^{-2} . A los doce días de conservación de los vegetales, se confirmó, la no existencia de *E. coli*, lo cual se confirma al no presentarse bacterias de origen Coliformes ($0E-2$ UFC/ml) en las muestras, pues *E. coli*, pertenece a este grupo, la misma que resulta ser característica de un mal manejo en el tratamiento o elaboración de un producto alimenticio, es importante resaltar que *E. coli*, se ha presentado incluso en alimentos procesados sobre sistemas de higiene y sanidad organizados (Huete & Brenes, 2018), lo que afirma el bioconservante desarrollado en la presente investigación fue efectivo para evitar la presencia de microorganismos.

A su vez, al evaluar enterobacterias estas dieron negativo al mostrar una concentración de $0E-2$ UFC/ml, cabe recalcar, que la *Salmonella* es una de las principales enterobacterias consideradas patógenos (Orellana, 2019), las cuales tuvieron una concentración nula dentro de la investigación, cabe considerar que esta bacteria puede ser invasiva al mantener contacto con algún objeto, en donde haya existido exposición de algún derivado de origen animal (Muñoz, 2014), por ende, su no presencia dentro de la investigación, pudo ser originada por el uso adecuado de materiales correctamente esterilizados, lo que repercute en la inocuidad bacteriana del producto final; todos estos resultados fueron detectados en el tratamiento 6 ($7,8 \times 10^8$ + Palmito), al ser el tratamiento con mejores características visuales de calidad, se trabajó solo sobre este tratamiento.

Capítulo VI

Conclusiones

Al evaluar el rendimiento del mosto de maracuyá variedad amarilla y variedad morada, se logró afirmar que la variedad morada, tiene mayor cantidad de pulpa en sus frutas, aun cuando esta se cultive de forma convencional.

En cuanto a los análisis fisicoquímicos realizados al mosto de maracuyá se determinó en las variedades amarilla y morada el pH (3,05 y 3,12), acidez (0,497 y 0,409), absorbancia (3,33 y 3,18) y grados brix (11 y 14) respectivamente, estos datos servirán de referencia para posteriores investigaciones.

En la caracterización microbiológica sobre el mosto de jugo de maracuyá fermentado por tres días, al evaluar la concentración de mohos y levaduras, presencia de aerobios y conteo de colonias BAL, se confirmó que el mosto de maracuyá obtenido es de consumo seguro, sin importar la variedad de maracuyá utilizada.

Se conoció que las colonias presentes en el mosto fueron, gran positivas, con morfología cocos, lo que se corroboró al realizar la secuenciación y análisis filogenético de los aislados, en donde se confirmó la presencia de *Limosilactobacillus reuteri*.

En cuanto a la concentración A0 (1,12X10¹⁵) y A1(7,8X10⁸), al comparar resultados, se afirma que las dos concentraciones son favorables para la aplicabilidad y elaboración de bioconservantes, la concentración seleccionada dependerá de las necesidades del productor.

Al evaluar el contenido nutricional y fisicoquímico de las variedades de vegetales evaluados (col, pepino y palmito), se afirmó que, no es factible homogenizar los contenidos de pH, acidez, humedad, materia seca y ceniza, ya que cada especie tiene sus propias características.

Dentro de la interacción, al evaluar el pH, las dos concentraciones con palmito son las más favorecidas, luego de aplicar el bioconservante; en cuanto a la acidez, no existe información de un rango establecido, sin embargo resultó ser menor a la de los cítricos en todos los tratamientos, al evaluar el contenido de humedad, se pudo apreciar que luego de 7 días de conservación, todos los vegetales mantuvieron un promedio que se ubica en los parámetros de vegetales frescos, en la variable materia seca y ceniza, los resultados dependieron del vegetal evaluado.

Al evaluarse las propiedades microbiológicas de los vegetales, en aerobios (cantidad de colonias) se identificó la no contaminación de las muestras evaluadas, por lo cual, se conservaron los límites de calidad permitidos, a su vez, al analizar la concentración de mohos y levaduras no se encontró presencia de los mismos, en ninguno de los tratamientos, por lo cual, se afirma la seguridad del consumo de todos los vegetales utilizados.

En la caracterización microbiológica para evaluar la efectividad del bioconservante, se confirmó, la no presencia de *E. coli*; bacterias Coliformes; Enterobacterias y *Salmonella*; resultado que refleja una adecuada manipulación y elaboración de los productos terminados, lo cual influye de forma directa sobre la calidad o efectividad de los bioconservantes y sus respectivas concentraciones.

II. Recomendaciones

En cuanto al rendimiento del mosto de maracuyá, se ha logrado conocer que es más favorable utilizar la variedad morada, pues esta brinda mayor contenido de pulpa, lo que se convierte en un beneficio claro ante el productor, pues esta fruta tiene como punto clave de rendimiento el peso de la misma.

Al no existir una variación clara sobre el contenido fisicoquímico del mosto de maracuyá, se puede trabajar con cualquiera de las dos variedades, sin embargo, se debe tomar en cuenta el estado fisiológico de la planta, al momento de la cosecha y los factores externos de la planta, para asegurar homogeneidad en los parámetros fisicoquímicos.

En busca de elevar los días con inocuidad ante la presencia de mohos y levaduras, se puede desarrollar el mismo ensayo utilizando, otro tipo de envases, pues actualmente los resultados fueron favorables, pero existe la posibilidad de lograr mejorar dichos resultados al ampliar los días de conservación.

Como se logró confirmar la presencia de la bacteria *Limosilactobacillus reuteri* en el mosto, por ello, se puede replicar la investigación, basándose en parámetros fisicoquímicos en donde la bacteria tenga mayor libertad de ejercer su trabajo bioquímico.

Como se mencionó anteriormente, las concentraciones del bioconservante deben ser utilizadas, según sea la necesidad del productor, pues esto también debe ser considerado las características fisicoquímicas de los vegetales utilizados.

El contenido nutricional de los vegetales, al depender de la variedad y especie con la que se trabaje, debe ser tomado en cuenta al momento de elegir el vegetal, los cuales pueden ser comparados con los utilizados en la presente investigación, para que el productor tenga una idea de como podrían ser sus resultados y que concentración de bioconservante le es más favorable utilizar.

En el caso de querer combinar especies vegetales, es recomendable tomar en cuenta la relación que puede existir entre estos, pues no todas las especies y variedades realizan sus funciones fisiológicas y bioquímicas de forma aparente, sin embargo, si se desea utilizar col, pepino y palmito; se recomienda una combinación en donde siempre se trabaje con palmito, pues con este vegetal, existe menor variación de las propiedades fisicoquímicas del producto final.

Se recomienda utilizar los parámetros fisicoquímicos del mosto, para realizar el bioconservante, pues con sus características se ha logrado evitar la presencia de aerobios, moho y levaduras, lo que afirma, calidad sobre los productos, y por ende beneficios económicos ante el productor.

Debido a que el bioconservante presentó excelentes resultados al evaluar la efectividad microbiológica, se recomienda su uso de forma comercial, y la utilización de este, ante otro tipo de combinaciones, tanto en concentraciones, como utilizando otros vegetales.

Capítulo VII

Bibliografía

- Aguavil, J. C. (2012). *EVALUACIÓN DEL EFECTO DE UN PROBIÓTICO NATIVO ELABORADO EN BASE A Lactobacillus acidophilus y bacillus subtilis sobre el sistema gastrointestinal en pollos broiler ROSS-308 en Santo Domingo de los Tsachilas*. Santo Domingo-Ecuador: ESCUELA POLITECNICA DEL EJERCITO. Obtenido de <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/5213/1/T-ESPE-IASA%20II%20-%20002399.pdf>
- Agudelo, L., Mabel, M., Torres-Taborda, M., Álvarez-López, C., & Vélez-Acosta, L. (2015). Bacteriocinas producidas por bacterias ácido lácticas y su aplicación en la industria de alimentos. *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencia y Tecnología de los alimentos, Alimentos hoy*, 36, 186-205.
- Aguirre, J. (2016). Encurtidos típicos cuencanos. *Universidad de Cuenca*.
- Aguirre, J., Ramírez, B., Cadena, J., Caso, L., Juárez, S., & Martínez, D. (2019). Posibilidades del bambú (*Guadua angustifolia* Kunth) para la alimentación humana en la Sierra Nororiental de Puebla, México. *Nova scientia*, 10(21), 137-153.
- Armuzzi, A. (2017). The effect of oral administration of *Lactobacillus GG* on antibiotic-associated gastrointestinal side-effects during *Helicobacter pylori* eradication therapy. *Aliment Pharmacol Ther*, 1, 163-169.
- Aroca, K., Regalado, O., & Acosta, S. (2018). Estudio de la conservación de frutas en "Gamma IV" con la aplicación de un recubrimiento biodegradable-activo. *Ecuador es calidad*, 1, 47-59.

- Artés, F., & Artés-Hernández, F. (2003). Principios y diseño de industrias de procesado en fresco de hortalizas. En: Envasado y comercialización de frutas y hortalizas mínimamente procesadas. *Editorial Gobierno de La Rioja. España.*
- Belinchón, A. (2017). Repollo y verduras crucíferas, fuente de fibra, vitaminas y minerales. *EFE: SALUD*. Obtenido de <https://www.efesalud.com/repollocruciferas-fibra-vitaminas/>
- Bourgeois, L. (1989). Microbiología Alimentaria. (2. Edición, Ed.) *España, Acribia.*
- Calderón, R., Jácome, J., Reyes, M., Rojas, D., & Ramírez, L. (2017). Consideración básica sobre la seguridad microbiológica de los jugos de naranja expendidos en los alrededores de la Universidad Politécnica Salesiana-sede Quito, campus "El Girón.". *Revista de Ciencias de La Vida*, 25(1), 21-28.
- Campuzano, S., Mejía, D., Madero, C., & Pabón, P. (2015). Determinación de la calidad microbiológica y sanitaria de alimentos preparados vendidos en la vía pública de la ciudad de Bogotá D.C. *Nova*, 13(23), 81-93.
- Carrión, M. (2010). Manual de Practica en tecnología de conservas vegetales. *Universidad de Cuenca.*
- Centro de Validación de Tecnologías Agropecuarias [CEDEVA]. (2015). Mercado Argentino de Frutas Subtropicales. *Formosa. Argentina.*
- Conave. (11 de Febrero de 2020). *Estadísticas avícolas*. Obtenido de Conave: <https://www.conave.org/el-sector-avicola-en-numeros-2019>
- Condori, C. (2014). DETERIORO Y CONSERVACION DE ALIMENTOS. *ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS*. Obtenido de

<http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/4176/IAcosacm022.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Cortés, A., Díaz, M., & Salgado, M. (2018). BIOCONSERVACIÓN, ALIMENTOS Y PESCADO. *Agroproductividad*, 11(11), 11-16.
- Dumont, L., Anrique, R., & Alomar, D. (2012). Efecto de Dos Sistemas de Determinación de Materia Seca en la Composición Química y Calidad del Ensilaje Directo de Avena en Diferentes Estados Fenológicos. *Agricultura Técnica*, 65(4), 388-396.
- EL HERALDO. (28 de Febrero de 2020). *El sector avícola en números*. Obtenido de <https://www.elheraldo.com.ec/el-sector-avicola-en-numeros/>
- EL PRODUCTOR. (19 de Junio de 2020). *LOS EFECTOS DEL AMONIACO EN LA PRODUCCIÓN AVÍCOLA*. Obtenido de <https://elproductor.com/los-efectos-del-amoniaco-en-la-produccion-avicola/>
- García, A. (2008). Aplicación de la técnica de IV gama para la elaboración de ensaladas. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 2, 4658-4666.
- García, C., Alvis, C., & Romero, P. (2015). Aplicación del Mapa de Preferencia Externo en la Formulación de una Bebida Saborizada de Lactosuero y Pulpa de Maracuyá. *Información tecnológica*, 26(5), 17-24.
- García, P., Rodríguez, L., & Martínez, B. (2010). Food biopreservation: promising strategies using bacteriocins, bacteriophages and endolysins. *Trends in Food Science & Technology*, 21(3), 373-382.
- Genaro, G. (2012). La transpiración de frutas y verduras. *Infopost*, 11(7), 1-2.

González-De la Cruz, U., Rodríguez-Palma, K., Escalante-Herrera, L., Pérez-Morales, P., & De la Cruz-Leyva, M. (2021). Identificación genética de bacterias ácido lácticas nativas en leche cruda de vaca y queso. *Poro artesanal. Manglar*, 1, 7-13.

Guerra, N., Rúa, M., & Pastrana, L. (2015). Factores nutricionales que afectan la producción de dos bacteriocinas a partir de bacterias del ácido láctico en suero. *International Journal of Food Microbiology*, 1, 267-278.

HerbaZest. (2020). La maracuyá. Obtenido de <https://www.herbazest.com/es/hierbas/maracuya>

Huerta Tropical. (2019). Beneficios y propiedades de la fruta de la pasión. Obtenido de <https://huertatropical.com/beneficios-y-propiedades-fruta-de-la-pasion/>

Huete, M., & Brenes, P. (2018). Detección de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp en alimento listo al consumo: pollo asado expandido en distintos supermercados del distrito I y V de la ciudad de Managua, diciembre 2017 -enero 2018. *Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua*. Obtenido de <https://repositorio.unan.edu.ni/11984/1/100305.pdf>

INEN. (2008). Jugos, pulpas, concentrados, néctares, bebidas de frutas y vegetales. Obtenido de <https://ia902908.us.archive.org/11/items/ec.nte.2337.2008/ec.nte.2337.2008.pdf>

Jaramillo, P. (2017). *ALTERNATIVAS ORGÁNICAS PARA LA REDUCCIÓN DE AMONIACO EN LA CAMA PARA LA CRIANZA DE POLLO DE ENGORDE*. Obtenido de <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/14237/1/T-ESPESD-002122.pdf>

- Krasse, P., Carlsson, B., Dahl, C., Paulsson, A., Nilsson, A., & Sinkiewicz, G. (2016). Decreased gum bleeding and reduced gingivitis by the probiotic *Lactobacillus reuteri*. *Swedish Dental Journal*, 3, 55-60.
- LLaguno, P. S. (2020). *DETERMINACIÓN DE LA CALIDAD METODO DEL POTENCIOMETRO PDF.* .
- Lucas, J., & Vareles, C. (2015). Plan de Exportación de concentrado de maracujá producido en la empresa "Exofrut S.A.", para el mercado de Lima, Perú, Guayaquil. *Universidad Politécnica Salesiana*.
- Macedo, W., Quoirin, R., Ayub, C., Rombaldi, C., & Silva, J. (2012). Produção de etileno e atividade da enzima ACCoxidase em frutos de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.). Jaboticabal, Brasil. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 24(3), 102-119.
- Mathur, S., & Singh, R. (2005). Resistencia a los antibióticos en las bacterias del ácido láctico de los alimentos: una revisión. *Revista Internacional de Microbiología Alimentaria*, 281-295.
- Medina, T., Arroyo, G., Herrera, C., & Mexicano, L. (2017). *Bacillus subtilis* como probiótico en avicultura: aspectos relevantes en investigaciones recientes. *Scielo*, 7. Obtenido de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2448-61322017000300014
- Morejón, A., & Viznay, A. (2018). Control microbiológico y determinación de pH, acidez y grados brix de jugos expendidos en los espacios públicos de la ciudad de Cuenca-Ecuador. *Universidad de Cuenca*. Obtenido de <https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/30388/1/trabajo%20de%20titulaci%C3%B3n.pdf>

- Muñoz, G. (2014). Técnicas moleculares para la detección e identificación de patógenos en alimentos. *Medicina Experimental de salud publica*.
- Orellana, D. (2019). Meta-análisis de la prevalencia de Enterobacterias en diferentes tipos de alimentos. *Universidad del Azuay*. Obtenido de <https://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/9155/1/14799.pdf>
- Organización Mundial de la Salud. (2019). Inocuidad de los alimentos. Obtenido de Organización Mundial de la Salud
- Ortiz-Muñoz, L., Ortega-Bonilla, R., Chito-Trujillo, D., Ramírez-Sanabria, A., & Rada-Mendoza, M. (2021). Análisis de peligros y puntos críticos de control en la elaboración de manjar blanco en una planta de derivados lácteos del municipio de Popayán. *Bioteología en el sector agropecuario y agroindustrial*, 2, 214-233. doi:<https://doi.org/10.18684/bsaa.v19.n2.2021.1507>
- Oude, L. (2012). Raw and processed fruit and vegetable consumption and 10-year coronary heart disease incidence in a population-based cohort study in the Netherlands. *PLoS One*, 5(10), e13609.
- Parra, R. (2010). Bacterias ácido lácticas: papel funcional en los alimentos. *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 8(1), 93-106.
- Parra, R. (2010). Revisión. Bacterias ácido lácticas: papel funcional en los alimentos. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 1, 93-105.
- Pefaur, J. (2014). IV Gama: una industria alimentaria en crecimiento. Obtenido de <https://www.odepa.gob.cl/wp-content/uploads/2014/12/AgroindustrialIVGama.pdf>
- Pilamunga, A. (2014). Estudio de la aplicación de métodos combinados en la desinfección de hortalizas para evitar Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA`s).

Universidad Técnica de Ambato. Obtenido de

<https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/8440/1/AL%20541.pdf>

- Quito, E., & García, S. (2021). Economic and Productive Evaluation in Passion Fruit Production, Zone Vega Rivera, El Oro. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 2, e09.
- Ramírez, R., Quijada, O., Castellano, G., Burgos, M., Camacho, R., & Ramón, M. (2010). CARACTERÍSTICAS FÍSICAS Y QUÍMICAS DE FRUTOS DE TRECE CULTIVARES DE MANGO (*Mangifera indica* L) EN EL MUNICIPIO MARA EN LA PLANICE DE MARACAIBO. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 10(2), 65-72.
- Rivero, L., Saguir, F., & Rodríguez, M. (2019). Selección de bacterias lácticas autóctonas para su potencial aplicación en la conservación de alimentos de origen vegetal mínimamente procesados. *Centro Científico Tecnológico Conicet - NOA Sur*.
- Romero, M., Medina, M., & García, A. (2017). Bromatological composition and aerobic stability of forage maize silage (*Zea mays*) and passion fruit peel (*Passiflora edulis*). *Revista de Investigación Talentos*, 2, 1390-1399.
- Salinas, R., González, G., & Pirovani, M. (2017). Modelación del deterioro de productos vegetales frescos cortados. *Universidad y Ciencia*, 23(2), 183-196.
- Sánchez, J. (2015). *USO DE LOS MICROORGANISMO BENEFICOS PARA EL MEJORAMIENTO DE LA PRODUCCIÓN AVÍCOLA*. Costa Rica. Obtenido de <https://www.engormix.com/avicultura/articulos/uso-microorganismos-beneficos-mejoramiento-t32064.htm>

- Suarez, R., & Tomalá, F. (2012). Respuesta de maracuyá iniap-2009 (*Passiflora edulis* Flavicarpa deg) a la aplicación de N-P.K más micro elementos en el primer año de producción en san Vicente de Colonche. . *Universidad Estatal Península de Santa Elena*.
- Sung, V., D'Amico, F., Cabana, M., Chau, K., Koren, G., Savino, F., . . . Tancredi, D. (2018). Lactobacillus reuteri to treat infant colic: A meta-analysis. *In Pediatrics*, 1, 129-138.
- Uday, V. (19 de agosto de 2014). *Mapa ubicación espe santo domingo*. Obtenido de <https://es.slideshare.net/VinicioUday/mapa-ubicacin-espe-santo-domingo>
- Valarezo, A., Valarezo, O., Mendoza, A., Álvarez, H., & Vásquez, W. (2018). El cultivo de Maracuyá: Manual técnico para su manejo en el Litoral Ecuatoriano. Programa de Fruticultura de la Estación Experimental Portoviejo. *Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias*.
- Vestman, N., Chen, T., Holgerson, P., Öhman, C., & Johansson, I. (2015). Oral Microbiota Shift after 12-Week Supplementation with Lactobacillus reuteri DSM 17938 and PTA 5289. *A Randomized Control Trial. PloS One*, 5, 26-35.
- Von, J., Chaves, C., & Arias, M. (2013). Análisis de la calidad microbiológica y potencial presencia de Listeria monocytogenes en pulpas de guanábana (*Annona muricata*), mango (*Mangifera indica*) y maracuyá (*Passiflora edulis*) costarricenses. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 1, 53-57.
- Wasfi, R., El-Rahman, O., Zafer, M., & Ashour, H. (2018). Probiotic Lactobacillus sp. inhibit growth, biofilm formation and gene expression of cariesinducing Streptococcus mutans. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 3, 1972-1983. doi:<https://doi.org/10.1111/jcmm.13496>

Yong, A., Calves, E., González, Y., Permy, N., & Pavón, M. (2017). La conservación de alimentos, una alternativa para el fortalecimiento de la seguridad alimentaria a nivel local. *Cultivos Tropicales*, 38(1), 102-107.

Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C., Harris, H., Mattarelli, P., . . . Lebeer, S. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* beijerinck 1901, and union of Lactobacillaceae and Leuconostocaceae. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 4, 2782-2858.
doi:<https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107>