



**Estudio del efecto de distintas concentraciones de nisina como bioconservante en
alimentos de III Gama (Pulpas congeladas de frutas).**

Balseca Mariscal, Josselyn Carolina

Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura

Carrera de Ingeniería Agropecuaria Santo Domingo

Trabajo de integración curricular, previo a la obtención del título de Ingeniería Agropecuaria

Ph.D. Sánchez Llaguno, Sungey Naynee

15 de febrero del 2023

Reporte de verificación de contenido



CERTIFICADO DE ANÁLISIS
register

Josselyn Carolina Balseca Mariscal - TESIS

3%
Similitudes

< 1% Texto entre comillas
= 1% similitudes entre comillas

0% Miema no reconocido

Nombre del documento: Josselyn Carolina Balseca Mariscal - TESIS.pdf
 ID del documento: aa5183eb3af76c693a6fba435d25ed4fae4761f
 Tamaño del documento original: 1,59 Mb

Depositar: FREDDY GERMÁN ENRÍQUEZ JARAMILLO
 Fecha de depósito: 13/2/2023
 Tipo de carga: interface
 fecha de fin de análisis: 13/2/2023

Número de palabras: 16.624
 Número de caracteres: 125.741

Ubicación de las similitudes en el documento



Fuentes principales detectadas

Nº	Descripciones	Similitudes	Ubicaciones	Datos adicionales
1	repositorio.espe.edu.ec https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/2588/1/7_EFPE10_001181.pdf 15 fuentes similares	1%		Palabras idénticas: 1% (225 palabras)
2	CORRECCION TESIS DAVILA GOMEZ (1).pdf CORRECCION TESIS DAVILA, DO... El documento proviene de la biblioteca de referencias 12 fuentes similares	1%		Palabras idénticas: 1% (1% palabras)
3	repositorio.espe.edu.ec Estudio del efecto de distintas concentraciones de nitrato... https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/2388/1/7_EFPE10_001181.pdf.pdf 7 fuentes similares	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (158 palabras)
4	repositorio.espe.edu.ec A la memoria por el nacimiento de las hermanas JESSICA M... https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/2388/1/7_EFPE_001201.pdf.pdf 4 fuentes similares	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (169 palabras)
5	repositorio.espe.edu.ec https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/2148/1/7_EFPE_003050.pdf 10 fuentes similares	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (125 palabras)

Fuentes ignoradas Estas fuentes han sido retiradas del cálculo del porcentaje de similitud por el propietario del documento:

Nº	Descripciones	Similitudes	Ubicaciones	Datos adicionales
1	TESIS PRIMERA REVISION, Josselyn Balseca RJAN.pdf TESIS PRIMERA REVIS... El documento proviene de la biblioteca de referencias	34%		Palabras idénticas: 34% (57.891 palabras)
2	repositorio.espe.edu.ec Estudio del efecto de las concentraciones de cloruro de so... https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/2588/1/7_EFPE10_001181.pdf.pdf	5%		Palabras idénticas: 5% (228 palabras)
3	repositorio.espe.edu.ec https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/2588/1/7_EFPE10_001181.pdf.pdf - Item Estado del efu...	1%		Palabras idénticas: 1% (228 palabras)
4	repositorio.espe.edu.ec https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/2388/1/7_EFPE_001201.pdf	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (173 palabras)

Fuentes mencionadas (sin similitudes detectadas) Todas fuentes han sido citadas en el documento sin encontrar similitudes.

- https://espe.edu.ec
- http://www.espe.edu.ec
- https://www.espe.edu.ec
- https://espe.edu.ec
- http://www.lavanguardia.com/reservas-de-viaje/2015/08/08/544127797031100-anas-de



Elmado electrónicamente por:
SUNGEY NAYNEE
SANCHEZ LLAGUNO

Ph.D. Sánchez Llaguno, Sungey Naynee

DIRECTOR



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

Certificación

Certifico que el trabajo de integración curricular, **“Estudio del efecto de distintas concentraciones de nisina como bioconservante en alimentos de III gama (pulpas congeladas de frutas)”** fue realizado por la señorita **Balseca Mariscal, Josselyn Carolina** el cual ha sido revisado y analizado en su totalidad por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

Santo Domingo de los Tsáchilas, 15 de Febrero del 2023



Ph.D. Sánchez Llaguno, Sungey Naynee

C.C.: 1205348673



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

Responsabilidad de Autoría

Yo, **Balseca Mariscal, Josselyn Carolina**, con cédula de ciudadanía n° 1753041381 declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: **“Estudio del efecto de distintas concentraciones de nisina como bioconservante en alimentos de III gama (pulpas congeladas de frutas)”** 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 , 15 de Febrero del 2023



.....
Balseca Mariscal, Josselyn Carolina

C.C.: 1753041381



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

Autorización de Publicación

Yo, **Balseca Mariscal, Josselyn Carolina** con cédula de ciudadanía n°1753041381, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de integración curricular: **“Estudio del efecto de distintas concentraciones de nisina como bioconservante en alimentos de III gama (pulpas congeladas de frutas)”** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de nuestra responsabilidad.

Santo Domingo de los Tsáchilas, 15 de Febrero del 2023



.....

Balseca Mariscal, Josselyn Carolina

C.C.: 1753041381

Dedicatoria

A mis padres Teresa Jiménez (†) y Luis Mariscal (†), por el apoyo incondicional que siempre me han brindado desde que tengo uso y razón; por enseñarme a luchar por lo que quiero y no dejar que nadie destruya mis sueños, por heredarme lo más grande y valioso que puedo tener el día de hoy, mis estudios, que me servirán a lo largo de mi vida profesional, gracias, queridos padres por todo el apoyo y amor brindado siempre y hoy, desde el cielo.

A mi madre Teresa Mariscal, por su amor y apoyo incondicional a pesar de la distancia, por ser una madre ejemplar, por ser una mujer excepcional y contribuir para que se realicen cada una de mis metas, gracias por ser la mejor madre y amiga.

A mi hermano Luis Mariscal, por las enseñanzas, el aliento y los consejos en todo momento a lo largo de mis estudios, gracias por enseñarme que con perseverancia, dedicación y corazón puedo lograr todo lo que me proponga.

A mi cuñada Olga Cárdenas, por estar conmigo en los momentos de tristeza y alegría, por motivarme a seguir adelante y demostrarme a mí misma que puedo lograr todo lo que mentalice.

A mis queridos sobrinos Nicolas Mariscal y Mathyas Mariscal, por demostrarme que el amor y la felicidad equivalen a una vida llena de risas y que una sonrisa no cuesta nada, pero vale mucho para continuar el camino hacia la meta.

Josselyn Balseca.

Agradecimiento

En primera instancia agradezco a Dios, quien ilumina mi camino y guía mi vida con su amor y bendición.

A mis padres Teresa Jiménez (†), Luis Mariscal (†) y Teresa Mariscal, por ser mi guía. Gracias por ese apoyo incondicional, amor, paciencia y consejos brindados que fueron fundamentales en mi formación personal, enfatizando siempre, en los factores más importantes para la vida: los principios y valores.

A mi hermano Luis Mariscal, por las enseñanzas, el aliento y los consejos en todo momento a lo largo de mis estudios.

A mi tío el Dr. Luis Zambrano y primas, Adriana y Valeria Zambrano, por cada uno de sus consejos, por brindarme su apoyo en el momento que lo necesite.

Agradezco a la Universidad de las fuerzas Armadas - ESPE, a la carrera de Ingeniería Agropecuaria y a mis docentes, por haber aportado gran parte de los conocimientos que hoy, son la base para mi futura toma de decisiones como profesional, gracias por su dedicación y compromiso.

Mis más sinceros agradecimientos a mi tutora, Ph.D Sungey Sánchez por la confianza que depositó en mí y su predisposición en esta parte que fue fundamental para obtener mi título profesional.

Al Ph. D Juan Neira, por su gran disposición, sus conocimientos y orientación durante mi proceso de investigación.

A la Ing. Katty Medina e Ing. Jhoan Plúa, por la disposición, paciencia y enseñanzas en la fase de laboratorio.

Agradezco eternamente a todas y cada una de las personas que formaron parte de este largo trayecto, gracias por su amistad y apoyo incondicional.

Josselyn Balseca.

Índice de Contenido

Carátula.....	1
Reporte de verificación de contenido.....	2
Certificación	3
Responsabilidad de Autoría	4
Dedicatoria	6
Agradecimiento	7
Índice de Contenido	9
Índice de Tablas.....	15
Índice de Figuras	18
Resumen.....	20
Abstract	21
Capítulo I.....	22
Introducción.....	22
Objetivos	24

	10
Objetivo General	24
Objetivos Específicos	24
Hipótesis Nula.....	25
Hipótesis Alternativa	25
Capítulo II.....	27
Revisión de Literatura.....	27
La Guanábana	27
Características físico químicas de la guanábana	27
La Piña	28
Características físico químicas de la piña	29
El Mango.....	29
Características físico químicas del mango.....	30
Pulpa de Frutas.....	31
Extracción de la pulpa	31
Contaminantes Microbianos en Frutas.....	32
Los Antimicrobianos en la Industria Alimentaria	34
El Ácido Sórbico.....	34

	11
Utilización del ácido sórbico en la industria alimentaria	35
Bioconservación.....	36
Bacterias Ácido Lácticas.....	36
Aplicaciones de las bacterias ácido lácticas en la industria	36
Las bacteriocinas	37
Bacteriocinas en combinación con sustancias o métodos de conservación.....	40
La Nisina	43
Composición fisicoquímica de la nisina.....	44
Mecanismo de acción	45
Aplicaciones de la nisina en productos alimentarios	46
Capítulo III.....	49
Materiales y Métodos.....	49
Ubicación del Área de Investigación	49
Ubicación geográfica	49
Ubicación ecológica	50
Materiales.....	50
Elaboración de las pulpas.....	50

	12
Determinación de los grados Brix.....	51
Determinación del pH	52
Determinación de la acidez titulable.....	52
Determinación de la humedad.....	52
Determinación de la ceniza	53
Determinación de la fibra.....	53
Recuento de poblaciones microbianas	54
Análisis estadístico	54
Factores y niveles del experimento.....	54
Tratamientos	55
Diseño experimental	55
Variables medidas	56
Métodos	57
Elaboración de pulpas de frutas.....	57
Determinación de los grados brix.....	59
Determinación de pH.....	60
Determinación de la acidez titulable.....	60

	13
Determinación de humedad	61
Determinación de ceniza	62
Determinación de fibra bruta	63
Recuento de poblaciones microbianas	65
Capítulo IV	67
Resultados	67
Análisis descriptivo de las variables evaluadas en el estudio del efecto de distintas concentraciones de nisina como bioconservante en alimentos de III Gama (Pulpas congeladas de frutas).....	67
Análisis de varianza para los grados brix.....	67
Análisis de varianza para pH.....	68
Análisis de varianza para la acidez titulable	68
Análisis de varianza para humedad	69
Análisis de varianza para ceniza	70
Análisis de varianza para fibra	71
Análisis de varianza para recuento de aerobios	71

Prueba de significancia (Tukey $p < 0,05$) para los factores en estudio del efecto de distintas concentraciones de nisina como bioconservante en alimentos de III Gama (Pulpas congeladas de frutas).	72
Resultados considerando el Tipo de Frutas estudiadas (Factor A).....	72
Resultados considerando las Dosis de Nisina estudiadas (Factor A).....	75
Resultados considerando la Interacción (A*B).....	77
Resultados Gráficos de Superficie de Respuesta.	80
Superficie de respuesta para Grados Brix.	80
Superficie de Respuesta para pH.....	81
Superficie de Respuesta para acidez titulable	82
Superficie de Respuesta para Recuento de Aerobios.....	82
Análisis de componentes principales	83
Resultados Cualitativos	87
Recuento de mohos y levaduras.....	87
Identificación microbiológica.....	88
Balance de materiales del mejor tratamiento (a_1b_2).....	89
Capítulo V	90

	15
Discusión.....	90
Frutas (Factor A).....	90
Dosis de nisina (Factor B)	92
Interacción A*B (Frutas-Dosis de nisina)	93
Capítulo VI	95
Conclusiones.....	95
Factor A (Frutas).....	95
Factor B (Dosis de nisina)	96
Interacción AxB (Dosis de nisina).....	96
Recomendaciones	97
gBibliografía	98

Índice de Tablas

Tabla 1. <i>Características físico-químicas de la fruta de guanábana fresca.</i>	27
Tabla 2. <i>Características físico-químicas de la fruta de piña fresca.</i>	29
Tabla 3. <i>Características físico-químicas de la fruta de mango fresco.</i>	30

Tabla 4. <i>Contaminantes comúnmente hallados en frutas.</i>	32
Tabla 5. <i>Clasificación de los péptidos sintetizados por BAL.</i>	38
Tabla 6. <i>Combinaciones de bacteriocinas con sustancias y/o métodos de conservación.</i>	40
Tabla 7. <i>Caracterización ecológica del sitio de investigación.</i>	44
Tabla 8. <i>Aplicaciones de la nisina en productos alimenticios como bioconservante.</i> ...	47
Tabla 9. <i>Caracterización ecológica del sitio de investigación.</i>	50
Tabla 10. <i>Recursos utilizados para la elaboración de las pulpas.</i>	50
Tabla 11. <i>Recursos utilizados para la determinación de grados brix en las pulpas de fruta.</i>	51
Tabla 12. <i>Recursos utilizados para la determinación del pH en las pulpas de fruta.</i>	52
Tabla 13. <i>Recursos utilizados para la determinación de la acidez titulable en las pulpas de fruta.</i>	52
Tabla 14. <i>Recursos utilizados para la determinación de la humedad en la pulpa de fruta.</i>	53
Tabla 15. <i>Recursos utilizados para la determinación de la ceniza en las pulpas de fruta.</i>	53
Tabla 16. <i>Recursos utilizados para la determinación de la fibra en las pulpas de fruta.</i>	53

Tabla 17. Recursos utilizados para el recuento e identificación de poblaciones microbianas procedentes de las pulpas de fruta.	54
Tabla 18. Factores y niveles a probar en la elaboración de pulpas congeladas de frutas para evaluar el efecto de distintas concentraciones de nisina como bio-conservante.	54
Tabla 19. Tratamientos comparados en la elaboración de pulpas congeladas de frutas para evaluar el efecto de distintas concentraciones de nisina como bio-conservante.	55
Tabla 20. Esquema del análisis de varianza en la elaboración de pulpas congeladas de frutas para evaluar el efecto de distintas concentraciones de nisina como bio-conservante.	56
Tabla 21. Análisis de varianza para la variable grados brix de los productos de III Gama (pulpas congeladas de frutas).	67
Tabla 22. Análisis de varianza para la variable pH de los productos de III Gama (pulpas congeladas de frutas).	68
Tabla 23. Análisis de varianza para la variable acidez titulable de los productos de III Gama (pulpas congeladas de frutas).	68
Tabla 24. Análisis de varianza para la variable humedad de los productos de III Gama (pulpas congeladas de frutas).	69
Tabla 25. Análisis de varianza para la variable ceniza de los productos de III Gama (pulpas congeladas de frutas).	70
Tabla 26. Análisis de varianza para la variable fibra de los productos de III Gama (pulpas congeladas de frutas).	71

Tabla 27. <i>Análisis de varianza para la variable recuento de aerobios de los productos de III Gama (pulpas congeladas de frutas).</i>	72
Tabla 28. <i>Resultados del análisis de Tukey para el factor A en las variables físico-químicas y microbiológicas.</i>	73
Tabla 29. <i>Resultados del análisis de Tukey para el factor B en las variables físico-químicas y microbiológicas.</i>	75
Tabla 30. <i>Resultados de la prueba de Tukey para la interacción A*B en las variables físico-químicas y microbiológicas.</i>	77
Tabla 31. <i>Matriz de correlación de los componentes principales.</i>	83
Tabla 32. <i>Resultado del análisis microbiológico procedente del recuento de mohos y levaduras en los diferentes tratamientos.</i>	88
Tabla 33. <i>Resultado de la identificación microbiológica a partir del tratamiento con mejores características.</i>	88

Índice de Figuras

Figura 1. <i>Ventajas y desventajas del uso de bacteriocinas en productos alimenticios.</i> ..	39
Figura 2. <i>Estructura química de la nisina</i>	44
Figura 3. <i>Acción de la nisina sobre la membrana celular de bacterias Gram negativas.</i>	46

Figura 4. Ubicación geográfica de la Universidad de las Fuerzas Armadas, sede Santo Domingo.....	49
Figura 5. Diagrama de flujo para la elaboración de productos de III Gama (pulpas congeladas de fruta).	66
Figura 6. Prueba de significancia de las características fisicoquímicas de los productos de III Gama (pulpas congeladas de frutas) según las frutas (Factor A).....	73
Figura 7. Prueba de significancia de las características fisicoquímicas de los productos de III Gama (pulpas congeladas de frutas) según las dosis de nisina (Factor B).....	76
Figura 8. Prueba de significancia en las características físico-químicas de los productos de III Gama (pulpas congeladas de frutas) conforme a la interacción A*B.....	78
Figura 9. Superficie de respuesta para Grados Brix.	80
Figura 10. Superficie de respuesta para pH.....	81
Figura 11. Superficie de respuesta para acidez titulable.	82
Figura 12 Superficie de respuesta para recuento de aerobios.....	83
Figura 13 Gráfico de sedimentación.	85
Figura 14. Gráfico de componentes principales.....	85
Figura 15. Resultado de análisis de conglomerados.	86
Figura 16. Diagrama de flujo de la obtención de la pulpa congelada del mejor tratamiento.	89

Resumen

La presente investigación se basó en el estudio del efecto de distintas concentraciones de nisina como bioconservante en alimentos de III Gama (pulpas congeladas de frutas); su desarrollo tuvo lugar en la Universidad de las Fuerzas Armadas "ESPE", ubicada en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, parroquia Luz de América, específicamente en el laboratorio de bromatología y biociencias. El diseño de la experimentación se llevó a cabo bajo un ANOVA en DBCA con arreglo bifactorial: A (Frutas) x B (Dosis de nisina), conformado por 9 tratamientos y 3 repeticiones cada uno; dando un total de 27 unidades experimentales. En cuanto a la diferenciación entre medias de los tratamientos se utilizó la prueba de significancia de Tukey ($p > 0,05$). Se evaluaron variables fisicoquímicas: grados brix, pH, acidez titulable, humedad, ceniza y fibra; y microbiológicas (Recuento de aerobios y mohos-levaduras) de las pulpas de fruta (guanábana, piña y mango) tratadas con las diferentes dosis de nisina (100 ppm, 200 ppm, 300 ppm). Los mejores resultados en cuanto a las variables evaluadas se reflejaron con el tratamiento a_1b_2 (Piña + 300 ppm de nisina) ya que presentó, mayor acidez titulable ($1,07 \text{ g/cm}^3$), ceniza (18,11%), fibra (19,66%), recuento de aerobios (2,10 UFC/ml) y la nula aparición de unidades de propagación de mohos y levaduras; esta última variable, no fue sometida a análisis estadísticos debido a su inexistente variación. Adicionalmente, se realizó la prueba de identificación de los aerobios perjudiciales: salmonella, *E. coli*, coliformes y enterobacterias; solamente para a_1b_2 donde se hallaron resultados negativos.

Palabras clave: pulpas congeladas de frutas, guanábana, piña, mango, nisina, bioconservación.

Abstract

This research was based on the study of the effect of different concentrations of nisin as a biopreservative in III Range foods (frozen fruit pulp); its development took place at the University of the Armed Forces "ESPE", located in the province of Santo Domingo de los Tsáchilas, Luz de América parish, specifically in the laboratory of bromatology and biosciences. The experimental design was carried out under an ANOVA in DBCA with bifactorial arrangement: A (Fruits) x B (Dosage of nisin), consisting of 9 treatments and 3 replicates each; giving a total of 27 experimental units. The Tukey significance test ($p > 0.05$) was used to differentiate between the means of the treatments.

Physicochemical variables were evaluated: brix degrees, pH, titratable acidity, moisture, ash and fiber; and microbiological variables (aerobic and mold-yeast counts) of fruit pulps (soursop, pineapple and mango) treated with different doses of nisin (100 ppm, 200 ppm, 300 ppm). The best results in terms of the variables evaluated were reflected with treatment a1b2 (pineapple + 300 ppm of nisin), since it presented higher titratable acidity (1.07 g/cm³), ash (18.11%), fiber (19.66%), aerobic count (2.10 CFU/ml) and the null appearance of mold and yeast propagation units; this last variable was not subjected to statistical analysis due to its non-existent variation. Additionally, the identification test for harmful aerobes: salmonella, E. coli, coliforms and enterobacteria was performed; only for a1b2 where negative results were found.

Keywords: frozen fruit pulpa, guanabana, pineapple, handle, nisin, biopreservation.

Capítulo I

Introducción

Ecuador dentro de sus límites, posee una amplia diversidad de pisos climáticos que le han permitido posicionarse en el mundo como un importante país fruticultor, fuera del contexto tradicional como productor de banano. Puesto que, dentro de su oferta exportable, también existe una agrupación denominada “frutas no tradicionales”, que engloba a todas aquellas especies que son apetecidas por pequeños grupos de consumidores en el exterior, y por lo cual, se producen a pequeña o mediana escala dentro del territorio nacional.

Dentro de esta oferta se destacan frutas como, la guanábana, piña y el mango; siendo las dos últimas, las de mayor importancia debido a su demanda en el mercado externo que en 2021, bordeó las 100 000 toneladas para la piña y 61 371 toneladas de mango (Agrocalidad, 2022); (Agrocalidad, 2022). Mientras que, para la guanábana conforme a Moreno (2021) se estima una producción de alrededor de 6 000 toneladas de fruta fresca cada año.

No obstante, la generación de productos agrícolas provoca pérdidas en las primeras secciones de la cadena que son: producción, procesamiento y transporte; mientras que, los desperdicios son visibles en las argollas de comercialización y consumo. En América Latina y El Caribe existen pérdidas de alimentos que ascienden a los 220 millones de toneladas anuales (Alonso, 2020); de las cuales, en Ecuador se han registrado desperdicios de alrededor de 939 000 toneladas métricas por año (El Universo, 2020).

Según Dilucia y otros (2020) los residuos más abundantes están compuestos por los subproductos de frutas y hortalizas; que se desechan en forma de pulpas, piel y semillas y representan entre el 10 al 35% de la masa cruda desperdiciada. Esto ocurre, debido al deterioro fisiológico ocasionado por daños mecánicos en su manipulación y la naturaleza senescente de la fruta, lo que a su vez genera cambios no deseados en las características organolépticas y reducen su calidad (Agriopoulou y otros, 2020).

La elaboración de pulpas es una alternativa para aprovechar las frutas que se desperdician en la cadena de comercialización y distribución; puesto que, luego de procesar la pulpa, se pueden almacenar a bajas temperaturas durante un considerable período de tiempo alargando así su vida útil (Ribeiro y otros, 2021).

Sin embargo, para mantener la viabilidad de este tipo de productos, tradicionalmente se han utilizado antimicrobianos químicos; no obstante, las nuevas tendencias del mundo globalizado han enfatizado sobre la necesidad de utilizar conservantes naturales para garantizar productos más saludables, la estabilidad microbiana y conservación de las propiedades sensoriales (Teixeira y otros, 2017).

Las bacteriocinas, son péptidos antimicrobianos de alto potencial para la industria alimentaria puesto que son generadas por las bacterias ácido lácticas. Durante los últimos años, la nisina ha sido aprobada como aditivo alimentario para productos a base de frutas solo en algunos países (Teixeira y otros, 2017). Estas han demostrado reducir la contaminación por patógenos y ampliar la vida útil del producto procesado (Agriopoulou y otros, 2020).

En zumo de frutas (guayaba, naranja, cupuasú, mango, durazno, anacardo, maracuyá y guanábana), por ejemplo, conforme al estudio de Carnelossi y otros (2015)

la nisina mantuvo la calidad estable, aun a temperatura ambiente durante 30 días sin alterar las propiedades físico-químicas de forma significativa.

Por lo cual, en base a lo anteriormente manifestado, se considera que esta investigación aporta con postulados que permitirán desarrollar el área de la industria alimentaria mediante fundamentaciones científicas, mediante la conservación de pulpas de frutas con la aplicación de nisina; bacteriocina que tiene un alto potencial para la bioconservación de productos a base de frutas. Tal es el caso de la guanábana, piña y el mango, que poseen un elevado atractivo exportable, por sus características organolépticas.

Objetivos

Objetivo General

Estudiar el efecto de distintas concentraciones de nisina como bioconservante en productos de III Gama (pulpas congeladas de frutas).

Objetivos Específicos

Elaborar los distintos productos de III Gama (pulpas congeladas de frutas: guanábana (*Anona muricata*), piña (*Ananas comosus*) y mango (*Mangífera indica*).

Evaluar distintas concentraciones de nisina como bioconservante en los productos de III Gama (pulpas congeladas de frutas), para extender la vida útil.

Determinar mediante análisis fisicoquímicos y microbiológicos, las características de los distintos productos de III Gama (pulpas congeladas de frutas) después de la aplicación del bioconservante

Determinar el rendimiento de cada producto de III Gama (pulpas congeladas de frutas) mediante balance de materia.

Hipótesis Nula

H₀: La elaboración de los diferentes productos de III Gama no difiere entre las frutas: guanábana (*Anona muricata*), piña (*Ananas comosus*) y mango (*Mangífera indica*).

H₀: Las distintas concentraciones de nisina como bioconservante, en los productos de III Gama (Pulpas congeladas de frutas) no extienden la vida útil.

H₀: Las características fisicoquímicas y microbiológicas de los distintos productos de III Gama (pulpas congeladas de frutas) no cambian después de la aplicación del bioconservante.

H₀: El rendimiento de los productos de III Gama (pulpas congeladas de frutas) no difieren entre tratamientos.

Hipótesis Alternativa

H₀: La elaboración de los diferentes productos de III Gama difieren entre las frutas: guanábana (*Anona muricata*), piña (*Ananas comosus*) y mango (*Mangífera indica*).

H₀: Las distintas concentraciones de nisina como bioconservante, en los productos de III Gama (Pulpas congeladas de frutas) sí extienden la vida útil.

H₀: Las características fisicoquímicas y microbiológicas de los distintos productos de III Gama (Pulpas congeladas de frutas) sí cambian después de la aplicación del bioconservante.

H₀: El rendimiento de los productos de III Gama (pulpas congeladas de frutas) sí difieren entre tratamientos.

Capítulo II

Revisión de Literatura

La Guanábana

Es un árbol frutal nativo de América del Sur que puede alcanzar hasta 11 metros de longitud (Marmolejo y otros, 2022). Su origen es prehispánico y habitualmente se desarrolla en pisos altitudinales de 0 a 600 m; científicamente se le denomina *Annona muricata* L. Además de su pulpa, también se consumen las hojas puesto que, en la medicina tradicional, se les atribuyen propiedades antiinflamatorias y fotoquímicas para el tratamiento de reumatismo, diabetes y fiebre (Mendoza y otros, 2022).

Esta fruta ovoide es considerada climatérica ya que posee una alta tasa respiratoria, lo que genera la producción de etileno y una elevada actividad enzimática. En promedio los frutos pueden pesar 2,9 kg, de los cuales un 75,6% está constituido por la pulpa; mientras que el 12,7% corresponde a la cáscara, 4,8% a la semilla y el 6,9% al raquis (Mendoza y otros, 2022).

En cuanto a la pulpa, esta es considerada de calidad y óptima para su procesamiento o distribución al cliente en fresco, cuando se encuentra en un pH de 3 a 4 y grados brix de 13 a 17 (Mendoza y otros, 2022).

Características físico químicas de la guanábana

A continuación, se detallan las características físico-químicas de la fruta de guanábana:

Tabla 1.

Características físico-químicas de la fruta de guanábana fresca.

Característica	Valores
Humedad (%)	81 a 81,49
Acidez valorable (%)	0,87
Sólidos Solubles totales (°Brix)	14,10 a 15
pH	3,97 a 4,56
Ceniza (g)	0,70 a 0,87

Nota: La tabla presenta las características físico-químicas de la fruta de guanabana. obtenidas por diferentes autores. Fuente: Mendoza y otros (2022).

La Piña

Es una planta herbácea bianual o anual de hojas rígidas que puede alcanzar como punto máximo de crecimiento 1,5 m de altura a la que científicamente se le denomina *Ananas comosus*. Se originó en el continente americano (Domínguez, 2019).

Dentro del territorio ecuatoriano, es ampliamente producida en las provincias de Santo Domingo de los Tsáchilas, Guayas, El Oro, Manabí, Los Ríos y Esmeraldas. Las variedades de mayor acogida entre los productores son la MD2 (Golden sweet) y la cayena lisa (Champaca) (Domínguez, 2019).

La piña es apetecida debido a su coloración, sabor extremadamente dulce, alto contenido de vitamina C y reducida acidez. La variedad MD-2 se caracteriza por alcanzar un peso que va de 1,3 a 3,5 kg en promedio, su pulpa es de color amarilla clara y poseer entre 15 a 15 grados Brix (Domínguez, 2019).

La champaca por otro lado, puede pesar entre 1,5 a 2,5 kg por lo que se considera mediana; el color de la pulpa es amarillo-pálida y con una variación en su contenido de azúcares que puede situarse entre 13 a 19 grados Brix. No obstante, esta última variedad, se caracteriza por ser su nivel de acidez que no es aceptado por la mayoría de consumidores (Domínguez, 2019).

Características físico químicas de la piña

En la tabla 2, que se presenta a continuación se exponen las características físico-químicas de la fruta de piña:

Tabla 2.

Características físico-químicas de la fruta de piña fresca.

Característica	Valores
Humedad (%)	91,86
Acidez valorable (%)	0,87
Sólidos Solubles totales (°Brix)	9,7
pH	3,8
Ceniza (g)	0,20

Nota: La tabla presenta las características físico-químicas de la fruta de piña. obtenidas por diferentes autores. Fuente: García y otros (2018).

El Mango

Corresponde a un árbol frutal perenne que en el ámbito científico se le denomina *Mangifera indica* L puesto que, su centro de origen radica en la India extendiéndose por

la franja intertropical. Se desarrolla en a una altitud de 0 a 600 msnm y requiere de un período de sequía al menos durante un trimestre antes de la etapa floral con temperaturas entre 24 a 27°C (Ortega, 2022). Posee un alto contenido de carotenos (1159 a 3000 mg/100 g), que dota a sus frutas de colores rojo, amarillo o anaranjado. Además, es considerado útil para la nutrición humana, ya que tiene un nivel de fibra tan importante que provoca un efecto laxante (Vera, 2021).

En Ecuador esta fruta es realmente importante por lo que existen seis variedades que se siembran con mayor frecuencia por los productores: Tommy atkins (450 a 600 gramos; pulpa anaranjada), Ataulfo (pequeño o mediano con bajo contenido de fibra), Kent (500 a 800 gramos; color amarillo-anaranjado), Haden (380 a 700 gramos; color rojizo-amarillo), Keitt (600 gramos aproximadamente; bajo en fibra) y Edward (500 a 700 gramos; color rosa a amarillo) (Vera, 2021).

Características físico químicas del mango

En la tabla 3, que se presenta a continuación se exponen las características físico-químicas de la fruta de mango:

Tabla 3.

Características físico-químicas de la fruta de mango fresco.

Característica	Valores
Humedad (%)	71,14 a 78,63
Acidez valorable (%)	0,25 a 1,25
Sólidos Solubles totales (°Brix)	20,61 a 24,64
pH	3,20 a 4,67

Característica	Valores
Fibra (%)	6,40 a 12,37
Ceniza (%)	0,5 a 3,76

Nota: La tabla presenta las características físico-químicas de la fruta de mango. obtenidas por diferentes autores. Fuente: Rivas y otros (2020).

Pulpa de Frutas

El Instituto Ecuatoriano de Normalización (2008), define a la pulpa o puré de fruta como un producto comestible y carnoso que no se ha fermentado, pero puede fermentarse puesto que son susceptibles a estos fenómenos ya que se obtienen a través del tamizaje, triturado o desmenuzado basándose en BPA's de manufactura. Lo que se destaca en este proceso es la no eliminación del líquido producido a partir de la parte comestible. En este caso las materias primas pueden utilizarse enteras o sin cáscara, pero con un nivel de maduración óptimo.

Las pulpas de frutas pueden tener una vida útil de 6 meses si se almacenan en congelación y de hasta 3 meses si solamente son refrigeradas (Guanochanga, 2021).

Extracción de la pulpa

Para elaborar este tipo de productos, se necesita realizar diferentes pasos preliminares que son: selección, clasificación y lavado, para posteriormente extraer la pulpa. Durante este proceso es necesario controlar las características funcionales de la materia prima a través del buen manejo de las operaciones que tienen que ver con la mixtura, depuración, homogenización, escaldadura y los tratamientos de alta presión puesto que, un desatino podría modificarlas de forma negativa (Guanochanga, 2021).

Contaminantes Microbianos en Frutas

Los contaminantes microbianos de las frutas pueden provocar el deterioro de los alimentos o la intoxicación alimentaria, lo que plantea problemas económicos y de salud. La manipulación posterior a la cosecha, las técnicas de envasado y las condiciones de almacenamiento, así como el contenido de humedad, pueden afectar la contaminación y la supervivencia de los virus en las frutas. Una vez que las frutas se cosechan y clasifican para eliminar cualquier producto dañado, generalmente se almacenan en condiciones que evitan la pérdida de agua y reducen la proliferación microbiana (Soni & Brightwell, 2022).

Conforme a Soni y Brightwell (2022) algunos de los patógenos comunes transmitidos por los alimentos y los contaminantes microbianos relacionados con el deterioro se enumeran en la tabla 4:

Tabla 4.

Contaminantes comúnmente hallados en frutas.

Contaminantes microbianos	Relevancia	Preocupaciones basadas en la seguridad alimentaria/ vida útil
<i>Salmonella spp</i>	Produce gastroenteritis y presenta multiresistencia	Los productos frescos pueden contaminarse en cualquier momento desde la cosecha hasta el empaque
<i>E.coli</i> O157:H7	Colitis hemorrágica, diarrea sanguinolenta,	La multiplicación y el crecimiento de <i>E. coli</i> en productos frescos ocurren a 12–25 °C

Contaminantes microbianos	Relevancia	Preocupaciones basadas en la seguridad alimentaria/ vida útil
	<p>síndrome urémico</p> <p>hemolítico y muerte</p>	
<i>Aeromonas</i> spp.	<p>Intoxicación alimentaria que conduce a gastroenteritis.</p>	<p>Contaminan las frutas a través del agua dulce y salada, ya sea durante la cosecha o el manejo poscosecha.</p>
<i>Pseudomonas</i> spp.	<p>Producen factores de patogenicidad (toxinas, proteínas efectoras, proteasas, elastasas y pigmentos) que pueden afectar al sistema inmunitario</p>	<p>El mal manejo durante la cosecha o poscosecha conduce a la contaminación cruzada de <i>Pseudomonas</i> provenientes del suelo, fertilizantes, estiércol o agua utilizada para riego.</p>
Virus de la hepatitis A	<p>Conduce a síntomas leves a moderados y, en algunos casos, a la muerte.</p>	<p>Las frutas y verduras pueden sufrir una contaminación cruzada si se riegan con agua/soluciones que contienen restos fecales.</p>

Contaminantes microbianos	Relevancia	Preocupaciones basadas en la seguridad alimentaria/ vida útil
<p>Micotoxinas: <i>Aspergillus</i> spp., <i>Penicillium</i> spp., <i>Aspergillus</i> spp., <i>Penicillium</i> spp. y <i>Alternaria</i> spp.</p>	<p>Intoxicación alimentaria, deterioro y pérdida significativa de los productos de la cosecha.</p>	<p>Contaminación postcosecha por <i>Aspergillus</i> spp, <i>Penicillium</i> spp. y <i>Alternaria</i> spp provoca la producción de toxinas como parte de sus metabolitos secundarios y, en algunos casos, conduce al deterioro, como las manchas marrones de los cítricos por <i>Alternaria alternata</i></p>

Nota: La tabla presenta los contaminantes microbianos hallados comúnmente en las frutas.

Fuente: Soni y Brightwell (2022)

Los Antimicrobianos en la Industria Alimentaria

Se definen como compuestos cuyo objetivo es prolongar la vida útil de los alimentos inhibiendo el crecimiento de células microbianas o matándolas, que pueden ser de origen animal, a través de microorganismos o de origen vegetal. Entre los antimicrobianos de origen vegetal, se pueden clasificar en saponinas, flavonoides, terpenos, polifenoles y varios otros, en los que estos compuestos se pueden obtener a través de extractos de plantas, como los aceites esenciales (Ueda y otros, 2022).

El Ácido Sórbico

Este ácido en conjunto con la sal de potasio o calcio; son conservantes antimicrobianos ampliamente utilizados en los alimentos, especialmente para prevenir el crecimiento de moho en los productos alimenticios (Burks & Wesley, 2020).

Conforme a la FAO/OMS este producto posee forma de agujas incoloras o polvo blanco suelto, de ligero olor característico con una pureza no inferior al 99,0% y masa molar de 112,12 g mol⁻¹, con un punto de fusión entre 132 y 135 °C, y siendo ligeramente soluble en agua y soluble en etanol (Ferri, 2022).

Utilización del ácido sórbico en la industria alimentaria

Estos surgieron como una alternativa frente al uso del ácido benzoico. Debido a su naturaleza ácida se aconseja utilizarlos en un rango de pH de 5 a 6 (Burks & Wesley, 2020).

Se puede incorporar dentro del material de empaque utilizando vehículos orgánicos, como etanol, aceite vegetal o propilenglicol. Los productos de frutas (particularmente frutas de humedad intermedia) debido al deterioro provocado por hongos y levaduras. La inmersión (en sorbato al 2–10 %) es el método de aplicación recomendado para frutas con superficies irregulares (Ferri, 2022).

Los tratamientos como el procesamiento térmico, que afectan la calidad del producto, pueden reducirse mediante el uso de sorbato. Puede ser necesaria una pasteurización adicional o un tratamiento con dióxido de azufre para controlar el pardeamiento y la oxidación enzimáticos (Ferri, 2022).

Los sorbatos se han implicado con poca frecuencia en reacciones adversas, especialmente por vía oral (Burks & Wesley, 2020); puede causar urticaria de contacto

en la región perioral, especialmente en niños que se untan alimentos que contienen sorbato en la cara. En raras ocasiones, el ácido sórbico ha causado dermatitis de contacto (Ferri, 2022).

Bioconservación

La bioconservación, entendida como un método biológico para la conservación de alimentos con el uso de microorganismos y sus metabolitos, ha cobrado un gran interés en los últimos años debido a la mayor conciencia de los consumidores sobre los conservantes químicos y su impacto negativo en la salud (Zapásnik y otros, 2022).

Los microorganismos utilizados con fines de conservación natural deben cumplir una serie de requisitos, incluida la seguridad de uso, la producción de metabolitos no tóxicos, el mantenimiento de una alta actividad durante el almacenamiento y la ausencia de un impacto negativo en las propiedades sensoriales del producto. Las BAL son de particular importancia en los procesos de bioconservación debido al amplio espectro de su actividad contra el desarrollo de microflora desfavorable (Zapásnik y otros, 2022).

Bacterias Ácido Lácticas

Son un tipo de microorganismos que pueden fermentar carbohidratos para producir ácido láctico; estas pueden descomponer sustancias macromoleculares en los alimentos, incluida la degradación de polisacáridos no digeribles y la transformación de sustancias de sabores indeseables. Además, también pueden producir una variedad de productos que incluyen ácidos grasos de cadena corta, aminas, bacteriocinas, vitaminas y exopolisacáridos durante el metabolismo (Wang y otros, 2021).

Aplicaciones de las bacterias ácido lácticas en la industria

Sobre la base de las características metabólicas mencionadas anteriormente, las bacterias del ácido láctico han mostrado una variedad de aplicaciones ampliadas en la industria alimentaria. Por un lado, se utilizan para mejorar el sabor de los alimentos fermentados, aumentar la nutrición de los alimentos, reducir las sustancias nocivas, aumentar la vida útil, etc. Por otro lado, pueden usarse como probióticos para promover la salud en el cuerpo (Wang y otros, 2021).

Las BAL y las bifidobacterias tienen la capacidad de transformar componentes individuales de la dieta en vitaminas del grupo B y vitamina K, donde el primer grupo de vitaminas juega un papel fundamental en el funcionamiento normal del organismo humano. *Lactibacillus reuteri*, *Lactiplantibacillus plantarum* (*Lactobacillus plantarum*), *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium longum* merecen especial atención en el contexto de la biosíntesis de vitaminas del grupo B (Zapásnik y otros, 2022).

Las bacteriocinas

Las bacteriocinas son metabolitos primarios que pertenecen al grupo diverso de péptidos catiónicos e hidrófobos formados por 20 a 60 aminoácidos. Además, pueden ser sintetizados por bacterias haciendo uso de los ribosomas con antibacterianos; inhibiendo el desarrollo y la reproducción de varias bacterias. Interactúan con la superficie celular para aumentar la permeabilidad de la célula; inhibir la producción de pared celular; inhibir la síntesis de ácido nucleico; inhibir la síntesis de proteínas (Wang y otros, 2021).

En la actualidad, la aplicación de bacteriocinas producidas por BAL es limitada en la industria alimentaria. Solo el antibiótico nisina (E234) y la pediocina PA-1/Ac H se

comercializan en la cadena de suministro de alimentos como agentes conservantes (Zapásnik y otros, 2022).

A continuación, se encuentra la clasificación de las bacteriocinas según Castellanos y otros (2022):

Tabla 5.

Clasificación de los péptidos sintetizados por BAL.

Clasificación	Características	Sub-clasificación	Características	Bacteriocina
I	Lantibióticos. Péptidos policíclicos y termoestables. Tamaño: <3,4 kDa	a	Péptidos que van de 2,1 a 3,4 kDa, son catiónicos; es decir, poseen entre 2 a 7 cargas (+)	Nisina
			Péptidos que van de 1,9 a 2 kDa. No poseen carga negativa	Mersacidina
II	No lantibióticos. Péptidos de cadena lineal y termoestable. Tamaño: <10 kDa	a	Su secuencia consenso se encuentra en la fracción N-terminal TGNGVXC	Pediocina

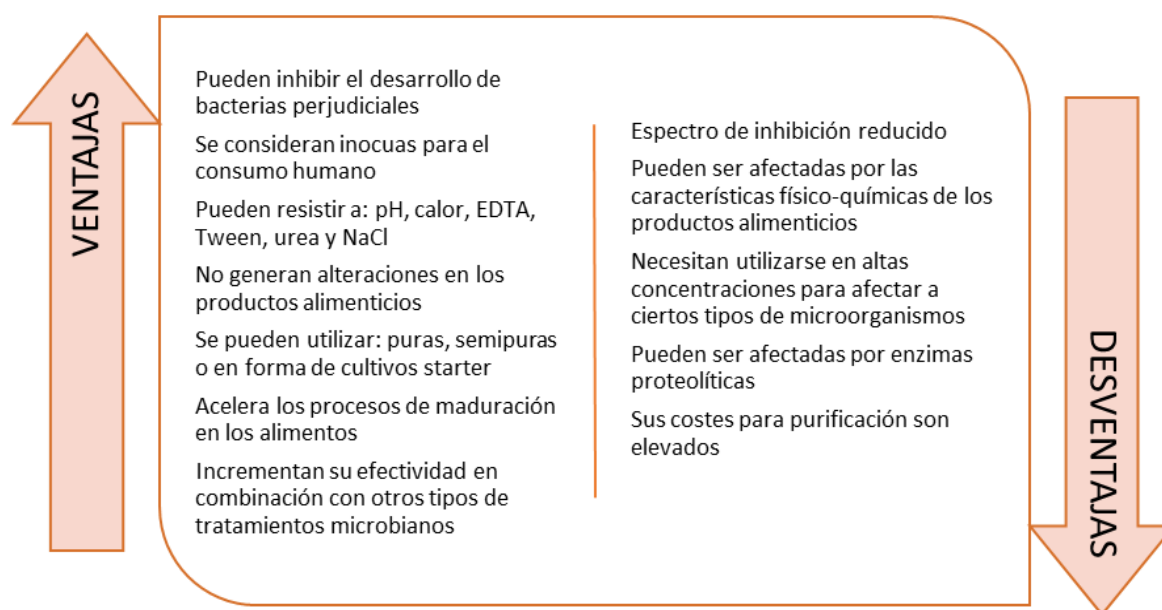
Clasificación	Características	Sub-clasificación	Características	Bacteriocina
		b	Se constituyen por un par de péptidos que son diferentes entre sí	Plantaricina
		c	Son transportados a través de un péptido líder	Lactocina
III	Péptidos menores de 30 kDa, son termolábiles			Helvecina J
IV	Péptidos conjugados			Lactocina 27
V	Circulares			A5-48

Nota: La tabla presenta las 5 clasificaciones de las bacteriocinas. **Fuente:** Castellanos y otros (2022).

Conforme a Castellanos y otros (2022), existen diversas ventajas y desventajas que se muestran en la siguiente figura:

Figura 1.

Ventajas y desventajas del uso de bacteriocinas en productos alimenticios.



Fuente: Tomado de Castellanos y otros (2022).

Bacteriocinas en combinación con sustancias o métodos de conservación

En la tabla 6, se especifican algunos ejemplos de las bacteriocinas en combinación con diferentes tipos de sustancias y/o métodos de conservación:

Tabla 6.

Combinaciones de bacteriocinas con sustancias y/o métodos de conservación.

Tipo de combinación	Combinación	Resultado
Con sustancias químicas que afectan la membrana	Nisina + EDTA	Disminución de <i>E. coli</i> enterohemorrágica
	Bacteriocina AS-48 (25 µg/mL), temperatura (65 °C) y pH (9)	Reducción de <i>Salmonella sp.</i> en soja

Tipo de combinación	Combinación	Resultado
	Bacteriocina AS-48 + Ácido Láctico, polifosfórico y peracético, hipoclorito de sodio, cloruro de hexadecilpiridinio, ácido hidroxicinámico	Reducción de <i>Salmonella sp.</i>
Con sistema lactoperoxidasa	Nisina, sistema lactoperoxidasa y reuterina + Cuajada	Reducción de <i>L. monocytogenes</i> en 3,4 unidades logarítmicas frente al control
	500 MPa a 10 °C por 5 minutos con bacterias bacteriocinogénicas	Disminución de <i>E. coli</i> en 5 U. log por 2 meses en quesos maduros fabricados con leche cruda
Con altas presiones hidrostáticas	2 ciclos de altas presiones; activación de la germinación esporádica (60 MPa por 210 minutos a 30°C) y para el efecto subletal (300 MPa por ¼ de hora a 30°C) + nisina (0,05 mg/L)	Disminución de 2,4 U. log en la fase de almacenamiento a 8°C de <i>B. cereus</i> en queso fabricado con leche curda; sin embargo, esta se recuperó luego de 15 días.
	Altas presiones hidrostáticas + pediocina PA-1 + fago P100 s	Reducieron las poblaciones de <i>L. monocytogenes</i> sin recuperación luego de una

Tipo de combinación	Combinación	Resultado
		semana de almacenamiento a 4°C
	Nisina + nanopartículas de quitosano/alginato	Manutención de la eficiencia antibacteriana contra <i>S. aureus</i> en leche cruda
Con nanopartículas	Nanopartículas de alginato-quitosano-plurónico F68 + nisina + gelatinización ionotrópica y reticulación policatiónica	El polímero y la nisina controlan <i>Micrococcus sp.</i> , <i>Enterobacter sp.</i> , <i>Salmonella sp.</i> , <i>Pseudomonas sp.</i> , durante 20 días
	Nanopartículas de óxido de magnesio (MgO NP) + nisina a 60 °C	Redujo en 7 las unidades logarítmicas de <i>S. aureus</i> y <i>E. coli</i> en leche
	Films de caseína de sodio + nisina	Disminución de <i>L. innocua</i> en 1,1 U. log. en queso
Con aceites esenciales	Nisina + Aceite esencia de <i>Zataria multiflora</i> B.	Inhibió la enterotoxina C y α toxina de <i>S. aureus</i> en queso iraní
	Aceite esencial de <i>Metasequoia glyptostroboides</i> al 1% + 500 UI/mL de nisina	Inhibió el crecimiento de <i>L. monocytogenes</i> en 6 U. log. Por 2 semanas a 4°C

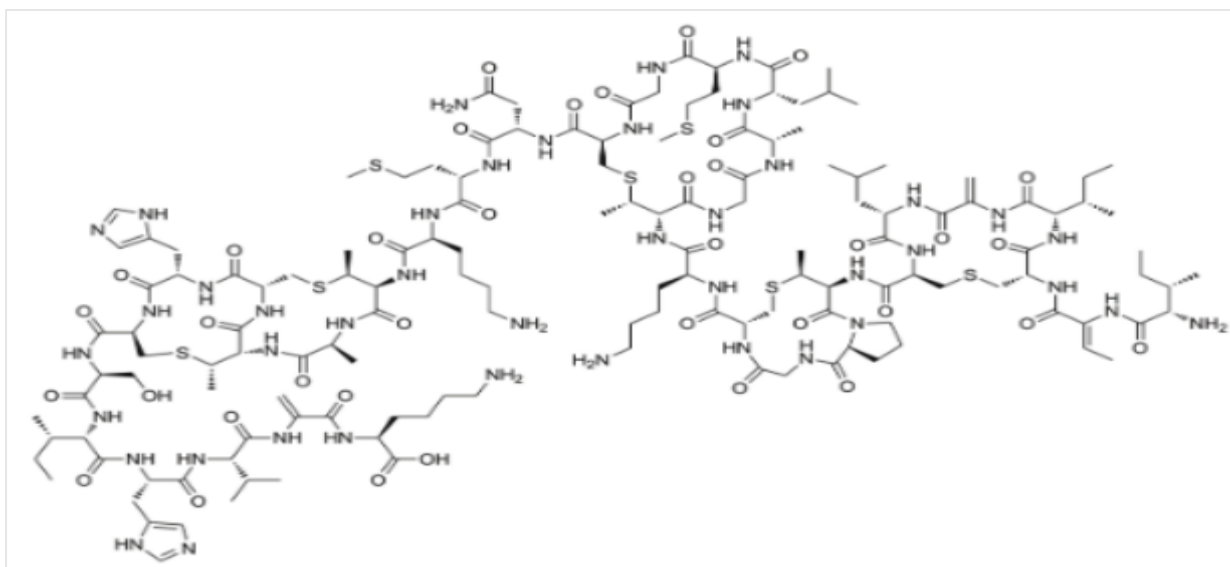
Tipo de combinación	Combinación	Resultado
	Aceite esencial de <i>H. persicum</i> + 5,3 UI/ml de Nisina	Inhibió el crecimiento de <i>L. monocytogenes</i> en queso blanco iraní

Nota: La tabla presenta las 5 clasificaciones de las bacteriocinas. Fuente: Castellanos y otros (2022).

La Nisina

La nisina secretada por *Lactococcus lactis* es la primera lantioquina que se identificó en el año de 1928 (Wang y otros, 2021). A nivel bioquímico su composición consta de 34 aminoácidos; sus variantes son la nisina A (histidina en posición 27), nisina Z (asparagina en posición 27), nisina Q (variación de la nisina que produce *Streptococcus uberis* y posee 31 aminoácidos) y la nisina U (posee una similitud del 82% frente a la nisina A) (Castellanos y otros, 2022).

Según los microorganismos objetivo, la aplicación de nisina se clasifica en una de tres categorías: (1) evitar el deterioro por bacterias formadoras de esporas, (2) evitar el deterioro por bacterias del ácido láctico y microorganismos relacionados o (3) matar o inhibir bacterias patógenas grampositivas, por ejemplo, *Bacillus cereus*, *C. botulinum* o *L. monocytogenes* (Castellanos y otros, 2022).

Figura 2.*Estructura química de la nisina*

Nota: la presente tabla expresa los valores que citó Perrazo (2022) según Merck kGaA (2022).

Composición fisicoquímica de la nisina**Tabla 7.***Caracterización ecológica del sitio de investigación.*

Aspecto	Descripción
Fórmula	$C_{143}H_{230}N_{42}O_{37}S_7$
Peso	3354,07 g/mol
Número CAS	1414-45-5
Aspecto	Polvoriento

Aspecto	Descripción
Color	Beige
Solubilidad	Soluble en agua
Fuente	<i>Lactococcus lactis</i>
Olor	Sin datos disponibles
Concentración	2,5% (saldo de NaCl)
Temperatura de almacenamiento	2-8°C
pH	Sin datos disponibles

Nota: la presente tabla expresa los valores que citó Perrazo (2022) según Merck kGaA (2022).

Mecanismo de acción

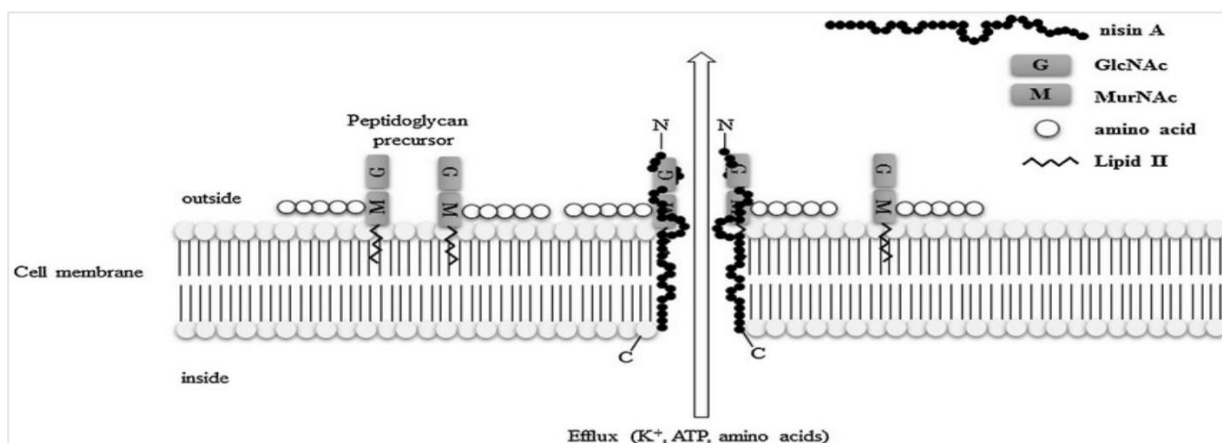
La nisina posee anillos de lantionina, la cual al tener afinidad por el lípido II (elemento de la membrana celular de las Gram+) un componente de la síntesis de peptidoglucano que además se encarga de regular la inserción de Mg⁺⁺ en la membrana celular, se interrumpe la síntesis de peptidoglucano y a la vez se inserta la nisina a la membrana citoplasmática, lo que la permeabiliza mediante la formación de espacios a manera de poros (Martínez y otros, 2021).

Los iones K⁺ y moles de energía son de importancia para el funcionamiento celular; además, junto con el ingreso desmesurado de iones Mg⁺⁺ la dinámica de protones y la despolarización del potencial membranal (requeridos para mantener la

homeostasis celular y el equilibrio iónico intracelular, así como también, el transporte de nutrientes y productos de deshecho celular) conllevan a la muerte de la célula (Martínez y otros, 2021, pág. 24).

Figura 3.

Acción de la nisina sobre la membrana celular de bacterias Gram negativas.



Nota: esta figura representa el mecanismo de acción de la nisina sobre la estructura de la membrana celular sobre las bacterias Gram (-). Fuente: Martínez y otros (2021) tomado de la modificación de Kawada-Matsuo y otros (2017).

Para las bacterias Gram- la situación es diferente puesto que, por su estructura a nivel de la pared celular, estas bacterias resultan impermeables por la capa exterior que la protege; es por ello que para que la nisina pueda actuar, es necesario que se utilicen métodos de conservación adicionales como la pasteurización (Martínez y otros, 2021).

Aplicaciones de la nisina en productos alimentarios

Varios estudios han demostrado que la nisina no produce cáncer o toxicidad en sus consumidores, debido a su degradación sobre la parte superior del tracto digestivo por la actividad de las proteasas; por lo cual puede ser utilizada como aditivo alimentario por su capacidad proteolítica (Martínez y otros, 2021).

En la tabla 8, se presentan diferentes productos alimentarios donde se la ha utilizado como conservante.

Tabla 8.

Aplicaciones de la nisina en productos alimenticios como bioconservante.

Alimento/Aplicación	Dosis de nisina (mg/L)	Microorganismos que ataca
Queso procesado	5-15	<i>Bacillus spp.</i>
		<i>Clostridium spp.</i>
Leche pasteurizada/ productos lácteos	0,25-10	<i>Bacillus spp.</i>
		<i>Clostridium spp.</i>
Postres (a base de lácteos)	0,25-10	<i>Bacillus spp.</i>
Alimentos enlatados (acidez baja)	2,5-5	<i>Bacillus staerothermophilus</i>
		<i>C. thermosaccharolyticum</i>
Alimentos enlatados (alta acidez)	1,25-2,5	<i>C. pasteurianum</i>
		<i>B. macerans</i>

Alimento/Aplicación	Dosis de nisina (mg/L)	Microorganismos que ataca
		<i>B. coagulans</i>
Queso ricotta	5	<i>Listeria monocytogenes</i>
Bollos (pan)	3,75-6,25	<i>Bacillus cereus</i>
Aderezos para ensaladas	1,25-5	Bacterias ácido lácticas
Sopas refrigeradas pasteurizadas	2,5-5	<i>Bacillus spp.</i>
Langosta en conserva	25	<i>Listeria monocytogenes</i>
Productos pasteurizados de huevo líquido	1,25-5	<i>Bacillus spp.</i> , <i>B. cereus</i>
Cerveza: Lavado de levadura (inicio)	25-37,5	<i>Lactobacillus spp.</i>
Durante la fermentación	0,63-2,5	<i>Pediococcus spp.</i>

Nota: la presente tabla expresa los apuntes de Martínez y otros (2021).

Capítulo III

Materiales y Métodos

Ubicación del Área de Investigación

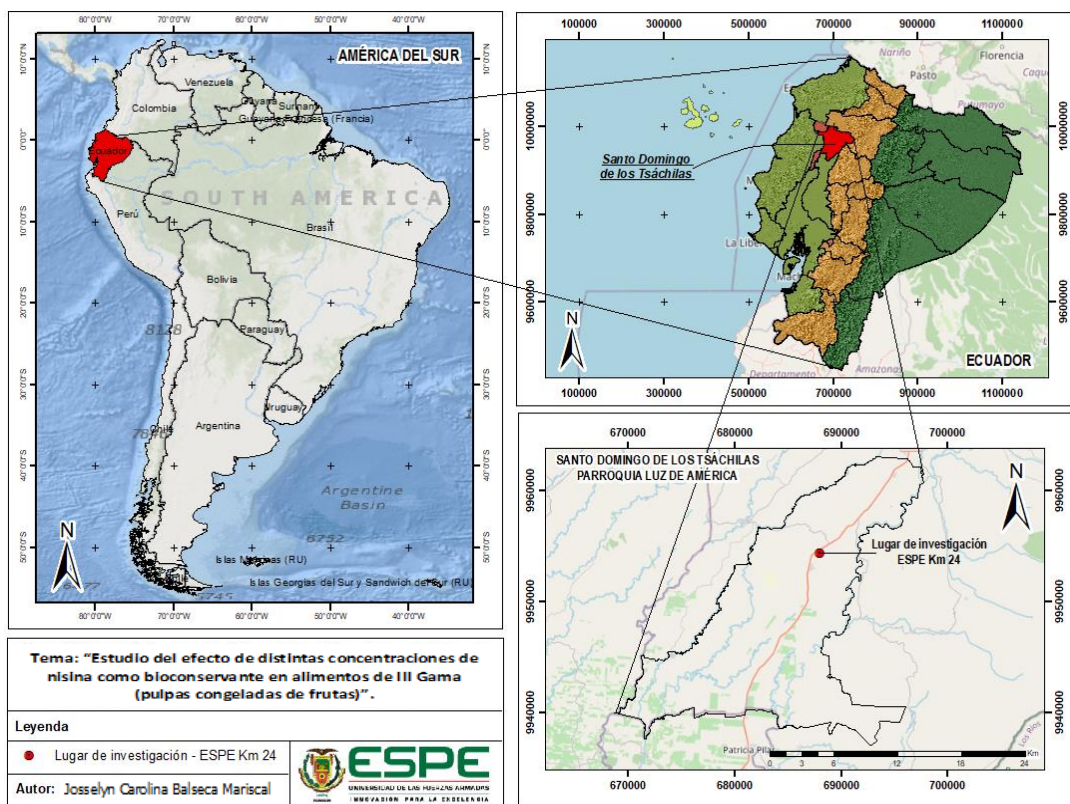
El estudio tuvo lugar en los laboratorios de la Universidad de las Fuerzas Armadas “ESPE” sede Santo Domingo; en el km 24 de la vía a Quevedo, parroquia Luz de América, cantón Santo Domingo, de la provincia Santo Domingo de los Tsáchilas.

Ubicación geográfica

Latitud: 00° 24' 36"; Longitud: 79° 18' 43"; Altitud: 270 msnm

Figura 4.

Ubicación geográfica de la Universidad de las Fuerzas Armadas, sede Santo Domingo.



Ubicación ecológica**Tabla 9.***Caracterización ecológica del sitio de investigación.*

Características	Descripción
Zona de vida:	Bosque húmedo Tropical
Altitud:	224 msnm
Temperatura media:	24 °C
Precipitación:	2860 mm año
Humedad relativa:	85%
Heliofanía:	680 horas luz/año
Tipo de suelo:	Franco arenoso

Materiales**Elaboración de las pulpas****Tabla 10.***Recursos utilizados para la elaboración de las pulpas.*

Materiales/ Equipos	Insumos	Muestras
Recipientes: térmicos y plásticos	Agua potable	Guanábanas
Cepillo	Agua destilada	Piñas

Materiales/ Equipos	Insumos	Muestras
Cuchillo	Ácido cítrico	Mangos
Espátula	Nisina	
Trituradora		
Tamiz		
Cocineta		
Termómetro		
Bolsas de polietileno		
Vasos de precipitación: 100 ml y 2 l		
Balanza analítica		
Probeta de 200 ml		
Congelador		

Determinación de los grados Brix

Tabla 11.

Recursos utilizados para la determinación de grados brix en las pulpas de fruta.

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
Balanza analítica	Espátula	Agua destilada	Pulpa de
Refractómetro	Bisturí		guanábana
Atago	Varilla de vidrio		Pulpa de piña
Baño María	Vasos de precipitación de 500 y 100 mL		Pulpa de mango
	Embudo de vidrio		
	Cocineta		

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
	Piseta		
	Gasas		

Determinación del pH

Tabla 12.

Recursos utilizados para la determinación del pH en las pulpas de fruta.

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
Potenciómetro	Vaso de precipitación	Agua destilada estéril	Pulpa de guanábana
Balanza	de 200 mL.	Soluciones buffer	Pulpa de piña
analítica	Plancha térmica-		Pulpa de mango
Baño María	magnética		

Determinación de la acidez titulable

Tabla 13.

Recursos utilizados para la determinación de la acidez titulable en las pulpas de fruta.

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
Potenciómetro	Vaso de precipitación: 100 ml	NaOH 0,1N	Pulpa de guanábana
Agitador	Vasos de precipitación: 200 mL	Agua	Pulpa de piña
Plancha térmica	Matraz volumétrico: 250 mL	destilada	Pulpa de mango
magnética	Probeta de 100 mL		
Equipo de titulación	Embudo de vidrio		
Equipo de titulación	Bureta de 25 mL		

Determinación de la humedad

Tabla 14.

Recursos utilizados para la determinación de la humedad en la pulpa de fruta.

Equipos	Materiales/Insumos	Muestras
Balanza analítica sensible al 0,1 mg	Vaso de precipitación de 100 ml	Pulpa de guanábana
Estufa		Pulpa de piña
		Pulpa de mango

Determinación de la ceniza

Tabla 15.

Recursos utilizados para la determinación de la ceniza en las pulpas de fruta.

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
Mufla	Crisoles	Agua destilada	Pulpa de guanábana
Desecador	Mechero bunsen	Aceite vegetal	Pulpa de piña
Balanza analítica	Pinzas metálicas		Pulpa de mango

Determinación de la fibra

Tabla 16.

Recursos utilizados para la determinación de la fibra en las pulpas de fruta.

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
Balanza analítica	Mortero	Ácido sulfúrico 0,18	Pulpa de guanábana
Equipo Dosi-Fiber	Probeta de 100 mL	M	Pulpa de piña
Bomba de vacío	Piseta	KOH o NaOH	Pulpa de mango
Estufa.	Pipetas	Antiespumante	
Mufla	Matraz kitasato	(acetona)	

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
Desecador	Crisoles porosos		

Recuento de poblaciones microbianas

Tabla 17.

Recursos utilizados para el recuento e identificación de poblaciones microbianas procedentes de las pulpas de fruta.

Equipos	Materiales/Reactivos	Muestras
Incubadora	Tubos de ensayo	Pulpa de guanábana
Plancha térmica magnética	Peptona	Pulpa de piña
Autoclave	Agua destilada estéril	Pulpa de mango
Cámara de flujo laminar	Vaso de precipitación de	
Balanza analítica	500 mL	
Stomacher	Mecheros bunsen	
	Láminas Petri film	
	Difusor	
	Espátula	

Análisis estadístico

Factores y niveles del experimento

Tabla 18.

Factores y niveles a probar en la elaboración de pulpas congeladas de frutas para evaluar el efecto de distintas concentraciones de nisina como bio-conservante.

Factores	Niveles
Frutas (A)	a0= Guanábana a1= Piña a2= Mango
Dosis de Nisina (B)	b0= 100 ppm b1= 200 ppm b2= 300 ppm

Tratamientos

Tabla 19.

Tratamientos comparados en la elaboración de pulpas congeladas de frutas para evaluar el efecto de distintas concentraciones de nisina como bio-conservante.

Tratamiento	Código	Descripción
T1	a0b0	Guanábana + 100 ppm de nisina.
T2	a0b1	Guanábana + 200 ppm de nisina.
T3	a0b2	Guanábana + 300 ppm de nisina.
T4	a1b0	Piña + 100 ppm de nisina.
T5	a1b1	Piña + 200 ppm de nisina.
T6	a1b2	Piña + 300 ppm de nisina.
T7	a2b0	Mango + 100 ppm de nisina.
T8	a2b1	Mango + 200 ppm de nisina.
T9	a2b2	Mango + 300 ppm de nisina.

Diseño experimental

El diseño experimental se desarrolló bajo el esquema bifactorial (3x3) conducido en un D.B.C.A. con tres repeticiones por tratamiento; mediante la utilización del software Statistica.

Tabla 20.

Esquema del análisis de varianza en la elaboración de pulpas congeladas de frutas para evaluar el efecto de distintas concentraciones de nisina como bio-conservante.

Fuente de Variación		Grados de Libertad
Tratamientos	T - 1	8
Réplicas	R - 1	2
Frutas	A - 1	2
Dosis de nisina	B - 1	2
Frutas x Dosis de nisina	(A - 1) (B - 1)	4
Error Experimental	(T - 1) (R - 1)	16
Total	RT - 1	26

Análisis funcional. Para decidir sobre los resultados obtenidos en cada variable se aplicó la prueba de significancia Tukey ($p < 0,05$).

Variables medidas

Grados brix. Se utilizó los materiales que se encuentran en la tabla 9 para desarrollar el procedimiento descrito de acuerdo a la NTE- INEN 380 (1985).

pH. Se evaluó el pH de las pulpas congeladas luego de 15 días de almacenamiento haciendo uso de los materiales de la tabla 11 y la metodología detallada en la NTE- INEN 389 (1985).

Acidez titulable. Se realizó tras 15 días de almacenamiento. Para esta variable se emplearon los recursos de la tabla 12 y se aplicó el procedimiento dictado por la NTE-INEN 381 (1985).

Humedad. La humedad se obtuvo con los recursos enlistados en la tabla 13; a partir de las muestras de las pulpas congeladas luego de 15 días de almacenamiento, en este caso se aplicó el método gravimétrico, detallado por Álvarez y Guevara (2020).

Ceniza. Para esta variable se utilizaron los recursos descritos en la tabla 14 y el procedimiento de la NTE-INEN 401 (1985), que se detalla a continuación:

Fibra bruta. La fibra bruta se determinó a partir de las pulpas luego de 15 días de almacenamiento. Para lo cual se utilizaron los recursos dispuestos en la tabla 15 y la metodología descrita por Nogales (2018).

Recuento de poblaciones microbianas. Se utilizaron los materiales expuestos en la tabla 16 para realizar diluciones de la pulpa congelada (10^{-2} para mohos y levaduras; 10^{-6} para bacterias) en agua peptonada que fue vigorosamente agitada conforme al procedimiento aplicado por Álvarez y Guevara (2020).

Métodos

Elaboración de pulpas de frutas

Esta fase de la experimentación se adecuó el procedimiento realizado por Cortez (2020):

Higienización. Antes de entrar al procedimiento, se higienizó el sitio de trabajo con hipoclorito de sodio.

Recepción de materia prima. Luego de la higienización, se procedió a ubicar las frutas en el lugar de trabajo. Además, se realizó el primer pesaje para conocer el peso de cada fruta en gramos.

Selección. En esta parte, se evaluó de manera visual el estado de las frutas.

Clasificación. Se distinguió a las frutas que estaban listas para ser procesadas en base a los grados brix. Luego se realizó un nuevo pesaje para diferenciar la cantidad de frutas que ingresó al proceso.

Desinfección. Consecuentemente las frutas fueron sumergidas en una solución desinfectante de ácido cítrico al 2% durante 10 minutos para las guanábanas y piñas y 5 minutos para los mangos. En esta etapa se cepillaron las piñas para eliminar todo rastro de suciedad.

Enjuague. Se realizó con agua potable para eliminar los residuos de desinfectante.

Escaldado. Se centró en someter a las frutas a un calentamiento corto en agua caliente (70°C) durante 3 minutos para el mango, guanábanas y piñas, con la finalidad de ablandar la fruta para incrementar el rendimiento de la pulpa y así reducir un poco la carga microbiana e inactivar las enzimas. A continuación, se pasó el recipiente plástico con las frutas bajo un chorro de agua potable, para provocar un choque térmico.

Adecuación. En esta fase se retiraron las cáscaras, corazón y semillas para proceder a cortar la fruta en trozos.

Triturado. Se realizó con una trituradora con la intención de facilitar el despulpe adecuadamente.

Formulación y homogenizado. En este caso se midió la cantidad de pulpa necesaria para el empaçado y así se aplicaron las diferentes dosis de nisina: 100 ppm, 200 ppm y 300 ppm conforme a cada tratamiento.

Pasteurización. Se llevó a cabo mediante un tratamiento térmico a una temperatura entre 70-80 °C durante 3 minutos.

Empacado y congelación. A continuación, las pulpas, se aislaron a un lugar limpio para empaquetar. Las pulpas se sometieron a temperaturas entre -10 a -30 °C.

Determinación de los grados brix

Mediante el método refractométrico, descrita por la NTE INEN (1985), se utilizó un refractómetro manual Atago. que fue previamente calibrado con agua destilada a un rango de temperatura a 20 °C hasta ajustarlo a 0° Brix.

Para la preparación de la muestra, se utilizó 10 g de la pulpa previamente descongelada que fue pesada en una balanza analítica con una aproximación a 0,01 g; mezclándola bien y prensándola mediante una gasa doblada en cuatro partes. Las primeras gotas del filtrado, fueron desechadas, pero posteriormente al resto se reservó para utilizarlo como muestra.

A continuación, se colocaron entre 2 a 3 gotas de la muestra sobre el prisma fijo del refractómetro y se ajustaron posteriormente con el prisma móvil. A continuación, se procedió a leer el índice de refracción conforme al resultado obtenido en grados brix.

Determinación de pH

El procedimiento se aplicó conforme a la NTE INEN 389 (1985).

Para la preparación de la muestra, se utilizó 10 g de las pulpas que fueron pesadas con aproximación a 0,01 g, para posteriormente homogeneizarlas con 100 ml de agua destilada hervida y enfriada a través de la agitación constante.

Luego de verificar el correcto funcionamiento del potenciómetro, mediante el uso de las soluciones buffer y agua destilada. Se procedió a medir 10 ml de muestra que se colocó a continuación, en un vaso de precipitación, para agitarla suavemente hasta que las partículas se suspendieron uniformemente.

Consecuentemente para los tres tipos de pulpas se determinó el pH a través de la lectura directa, introduciendo los electrodos del potenciómetro en el vaso de precipitación con la muestra, sin permitir que estos tocasen las paredes del vaso.

Determinación de la acidez titulable

Se realizó mediante los procedimientos de la NTE- INEN 381 (1985):

Se trituró 25 g de la muestra, previamente pesada con una aproximación al 0,01 g sobre una balanza analítica; a continuación, el producto fue trasladado hacia un matraz volumétrico de 250 cc hasta alcanzar el volumen de 50 cc con agua destilada caliente y así obtener un líquido uniforme. Posteriormente, se procedió a tomar con pinzas el matraz para colocarlo en el baño maría durante al menos 30 minutos. Luego, el contenido, se enfrió para derivarlo en alícuotas de 25 mL para la medición con el potenciómetro.

Después, se añadieron rápidamente entre 10 a 50 cc de la solución 0,1 N de NaOH, removiendo vigorosamente hasta lograr pH 6, con el potenciómetro. Luego se continuó adicionando lentamente solución 0,1 N de NaOH hasta lograr pH 7 y sucesivamente un pH de 8,3. Mediante interpolación se estableció con el volumen específico de solución 0,1 N de NaOH añadido, correspondiente al pH 8,1 y se calculó el resultado con la siguiente fórmula:

$$A = \frac{(V_1 N_1 M)}{V_2}$$

Siendo:

A = g de ácido en 100 g de producto.

V_1 = cc de NaOH utilizados para la titulación de la muestra.

N_1 = normalidad de la solución de NaOH.

M = peso molecular del ácido (0,060)

V_2 = volumen de la muestra para el análisis

Determinación de humedad

En este caso se utilizó la metodología aplicada por (Álvarez & Guevara, 2020):

Se tomó y registró el dato del peso de cada vaso de precipitación de 100 ml destinado a contener las muestras, con la ayuda de una balanza analítica; donde posteriormente se ubicaron 5 g de cada tratamiento. Luego, se colocaron los vasos con la muestra en la estufa a 105 °C durante un día; después de haber transcurrido este

lapso de tiempo, se pesaron los vasos con la muestra seca. Los resultados se calcularon con la fórmula:

$$\%H = \frac{m_1 - m_3}{m_2 - m_1} \times 100$$

Dónde:

m_1 = masa del vaso de precipitación vacío (g).

m_2 = masa del vaso de precipitación antes del secado (g).

m_3 = masa del vaso de precipitación con la muestra seca (g).

Determinación de ceniza

Se aplicó la NTE- INEN 401 (1985) en la cual:

Previo a la colocación de la muestra, se ubicaron las cápsulas en la mufla, calentándolas durante 15 min a 550 ± 25 °C; luego se transfirieron al desecador para enfriarlas y pesarlas con aproximación a 0,1 mg. Posteriormente en la cápsula, se pesó 10 g de muestra colocándola sobre una fuente calórica a 105 ± 5 °C, donde se evaporó. Luego se extrajeron las cápsulas para adicionarles unas gotas de aceite de oliva. A continuación, se calentaron sobre un mechero bunsen con la ayuda de unas pinzas metálicas hasta que cesó el borboteo.

Terminada la quema de la muestra, se colocó las cápsulas con su contenido dentro de la mufla a 550 ± 25 °C hasta obtener cenizas blancas; en los casos donde las cenizas fueron de un color oscuro, se humedecieron con unas gotas de agua destilada,

y nuevamente se evaporaron sobre el mechero bunsen, para proceder a calcinarlas por segunda vez en la mufla hasta que las cenizas se tornaron completamente blancas.

Finalmente, se pesó las cápsulas con su contenido en una balanza analítica.

Los resultados obtenidos fueron reemplazados en la siguiente fórmula:

$$C = \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1} \times 100$$

C = contenido de cenizas, porcentaje en masa.

m_1 = masa de la cápsula vacía (g).

m_2 = masa de la cápsula + muestra (g).

m_3 = masa de la cápsula + cenizas (g).

Determinación de fibra bruta

Para esta variable se empleó la técnica utilizada por Nogales (2018):

Se pesó 5 g de cada tratamiento, para descongelarlos y pesar 1,5 g de muestra para cada crisol poroso con precisión de ± 1 mg. Consecuentemente, se calentó el reactivo en la placa calentadora entre 95 a 100 °C; a continuación, los crisoles se llenaron con las muestras descongeladas para introducirlos en la unidad principal frente a las resistencias. A continuación, se bajaron las palancas de fijación y la reflectora.

Después, los mandos de la válvula se situaron en la posición "OFF", abriendo el grifo de entrada de agua refrigerante (caudal: 1- 2 l/min) y así se accionó el botón de encendido.

En el proceso de extracción caliente, se levantó la tapa superior para añadir el reactivo en cada columna; el potenciómetro de ajuste se giró en sentido antihorario hasta la posición 80 – 90 %, poniendo la resistencia en marcha. Continuamente, se añadió el antiespumante; al empezar el hervor del reactivo, y, se disminuyó la potencia de calor girando el potenciómetro hasta el 20-30%. Consecuentemente se calentó agua destilada; ya finalizada la extracción se apagó el calefactor y se abrió el grifo de la trampa de agua, situando los mandos de la válvula en la posición “aspirar”. Completada la filtración, la válvula se cerró.

La muestra, se lavó con el agua destilada caliente, introduciéndola por la entrada de la columna. Las válvulas fueron situadas en la posición aspirar para dejar las muestras secas. Continuando, los crisoles se extrajeron con una “asa porta-crisoles”

Para la hidrólisis ácida en caliente, se verificó que las válvulas se encontrasen cerradas, y así se añadió 150 ml de H_2SO_4 caliente, en cada columna y algunas gotas de antiespumante; a continuación, se abrió el circuito de refrigeración activando las resistencias calefactoras.

Luego se esperó que hierva, reduciendo el potencial de 90% a 30% durante 30 min a 1 h, conforme al material utilizado. Para una hidrólisis más efectiva, se accionó la bomba de aire en la posición “soplar”. En el punto de calefacción se abrió el circuito de vacío poniendo los mandos en la posición “Adsorción”. Posteriormente, se lavó y filtró con agua destilada.

En la parte de la extracción se preparó el fisco “kitasatos” con las trompas de vacío, situando el crisol en la entrada y añadiendo acetona a la vez que el circuito vacío adsorbía hacia el frasco.

Las muestras se secaron en la estufa a 150 °C durante 1 h, luego se transfirieron al desecador y posteriormente fueron pesadas con una precisión de 0,1 mg. A continuación, se incineraron las muestras de los crisoles en la mufla a 550 °C durante un lapso de 3 horas; y finalmente se enfriaron en el desecador para pesarlas con una precisión de 0,1 mg. Los resultados se obtuvieron con la fórmula:

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

%FB = Porcentaje de fibra bruta

W_0 = Peso de la muestra

W_1 = Peso del crisol + muestra seca

W_2 = Peso del crisol + muestra calcinada.

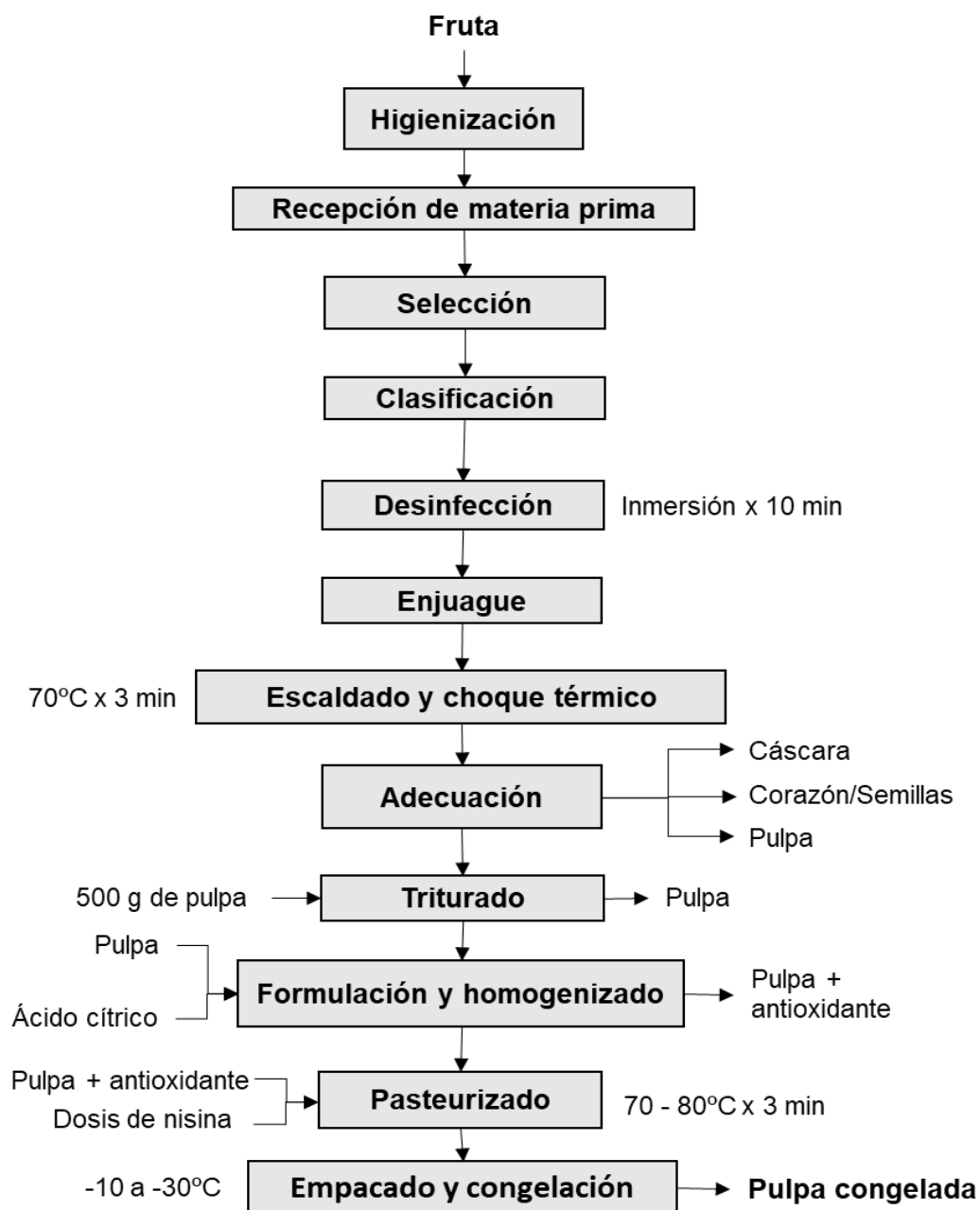
Recuento de poblaciones microbianas

Se preparó la muestra en base a las diluciones 10^{-6} hasta 10^{-2} , con agua peptonada al 0,1% homogenizándola. Luego se inoculó (hongos y bacterias), transfiriendo 1 ml de la pulpa de cada tratamiento a la superficie de la lámina de Petri film. La película se deslizó suavemente para evitar que queden burbujas atrapadas y se continuó con el difusor sobre el inóculo, que delimitó el área por la que se extendió el inóculo aplicando una presión suave sobre el difusor. Consecuentemente se retiró el difusor y se esperó 1 minuto para la solidificación del gel. El Petri film de bacterias se incubó a 37°C y el de hongos a 24°C por 48 horas. Transcurrido este período se procedió a contar. Las UFC y UF se calcularon con la ecuación utilizada por Álvarez y Guevara (2020):

$$\text{Recuento} \left(\frac{\text{UFC o UF}}{\text{ml}} \right) = \frac{\text{promedio de colonias}}{\text{factor de dilución} \times \text{volumen inoculado}}$$

Figura 5.

Diagrama de flujo para la elaboración de productos de III Gama (pulpas congeladas de fruta).



Capítulo IV

Resultados

Análisis descriptivo de las variables evaluadas en el estudio del efecto de distintas concentraciones de nisina como bioconservante en alimentos de III Gama (Pulpas congeladas de frutas).

Análisis de varianza para los grados brix

Tabla 21.

Análisis de varianza para la variable grados brix de los productos de III Gama (pulpas congeladas de frutas).

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Frutas	51,167	2	25,583	70,85	0,000
B: Dosis de Nisina	0,667	2	0,333	0,92	0,417
Réplicas	0,222	2	0,111	0,31	0,740
Interacción AxB	10,833	4	2,708	7,50	0,001
Error Experimental	5,778	16	0,361		
Total	68,67	26			

La tabla 21 muestra el análisis de varianza a un nivel de significancia al 5%; en este caso, el Factor A (frutas) y la interacción AXB presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). No obstante, el Factor B (dosis de nisina), no expresó diferencias significativas. En cuanto a las réplicas, no se encontró diferencia significativa lo que indica normalidad en la toma de resultados.

Análisis de varianza para pH

Tabla 22.

Análisis de varianza para la variable pH de los productos de III Gama (pulpas congeladas de frutas).

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Frutas	0,2805	2	0,1402	62,4	0,000
B: Dosis de Nisina	0,0069	2	0,0034	1,5	0,246
Réplicas	0,0001	2	0,0001	0,0	0,974
Interacción: AxB	0,0338	4	0,0084	3,8	0,024
Error Experimental	0,0359	16	0,0022		
Total	0,36	26			

La tabla 22 expone el análisis de varianza con un nivel de significancia al 5%; en este caso, solamente el Factor A (frutas) presentó diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$). Sin embargo, el Factor B (dosis de nisina), al igual que la interacción AxB y las réplicas, no expresaron diferencias significativas lo que indicó la normalidad de la toma de resultados.

Análisis de varianza para la acidez titulable

Tabla 23.

Análisis de varianza para la variable acidez titulable de los productos de III Gama (pulpas congeladas de frutas).

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Frutas	0,8340	2	0,4170	140,25	0,000
B: Dosis de Nisina	0,0469	2	0,0234	7,89	0,004
Réplicas	0,0139	2	0,0070	2,34	0,129
Interacción: AxB	0,1711	4	0,0428	14,39	0,000
Error Experimental	0,0476	16	0,0030		
Total	1,11	26			

La tabla 23 muestra el análisis de varianza a un nivel de significancia al 5%; en este caso, los factores: A (frutas) y B (dosis de nisina) junto con su interacción AxB, presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Por otra parte, las réplicas, no demostraron diferencia significativa, indicando la normalidad en la toma de resultados.

Análisis de varianza para humedad

Tabla 24.

Análisis de varianza para la variable humedad de los productos de III Gama (pulpas congeladas de frutas).

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Frutas	151,80	2	75,90	9,01	0,002
B: Dosis de Nisina	30,50	2	15,30	1,81	0,195
Réplicas	0,80	2	0,40	0,05	0,955
Interacción: AxB	77,50	4	19,40	2,30	0,103

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Error Experimental	134,70	16	8,40		
Total	395,33	26			

La tabla 24 expone el análisis de varianza a un nivel de significancia al 5%; en este caso, solo el factor A (frutas) demostró diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$); mientras que, el factor B (dosis de nisina) y la interacción AxB junto con las réplicas, no presentaron diferencias significativas, pero sí, normalidad en la toma de resultados.

Análisis de varianza para ceniza

Tabla 25.

Análisis de varianza para la variable ceniza de los productos de III Gama (pulpas congeladas de frutas).

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Frutas	0,250	2	0,125	0,59	0,566
B: Dosis de Nisina	0,659	2	0,329	1,55	0,242
Réplicas	0,166	2	0,083	0,39	0,683
Interacción AxB	0,307	4	0,077	0,36	0,832
Error Experimental	3,395	16	0,212		
Total	4,78	26			

La tabla 25 expone los resultados del análisis de varianza a un nivel de significancia al 5%, donde no se evidenciaron diferencias significativas ($p > 0.05$) en ninguna de las fuentes de variación, lo que indicó normalidad en la toma de resultados.

Análisis de varianza para fibra

Tabla 26.

Análisis de varianza para la variable fibra de los productos de III Gama (pulpas congeladas de frutas).

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Frutas	187,87	2	93,94	3,49	0,055
B: Dosis de Nisina	9,67	2	4,83	0,18	0,837
Réplicas	475,94	2	237,97	8,83	0,003
Interacción AxB	238,37	4	59,59	2,21	0,114
Error Experimental	431,22	16	26,95		
Total	1343,07	26			

La tabla 26 presenta el análisis de varianza a un nivel de significancia del 5%; en este caso, se evidencia que solamente las réplicas demostraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Por el contrario, el factor A (frutas) y B (dosis de nisina), con su consecuente interacción AXB no exhibieron diferencias significativas, lo que indicó la normalidad en la toma de resultados.

Análisis de varianza para recuento de aerobios

Tabla 27.

Análisis de varianza para la variable recuento de aerobios de los productos de III Gama (pulpas congeladas de frutas).

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Frutas	2,39	2	1,15	45,84	0,000
B: Dosis de Nisina	2,49	2	1,20	47,63	0,000
Réplicas	0,03	2	1,24	0,49	0,625
Interacción AxB	6,63	4	1,66	63,50	0,000
Error Experimental	0,42	16	0.03		
Total	11,96	26			

La tabla 27 expone el análisis de varianza a un nivel de significancia al 5%; en cuyo caso, el factor A (frutas), factor B (Dosis de nisina) y la interacción AXB presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Mientras que, las réplicas no demostraron diferencias significativas lo que indicó la normalidad en la toma de resultados.

Prueba de significancia (Tukey $p < 0,05$) para los factores en estudio del efecto de distintas concentraciones de nisina como bioconservante en alimentos de III Gama (Pulpas congeladas de frutas).

Resultados considerando el Tipo de Frutas estudiadas (Factor A).

Prueba de significancia de Tukey para el tipo de frutas (Factor A).

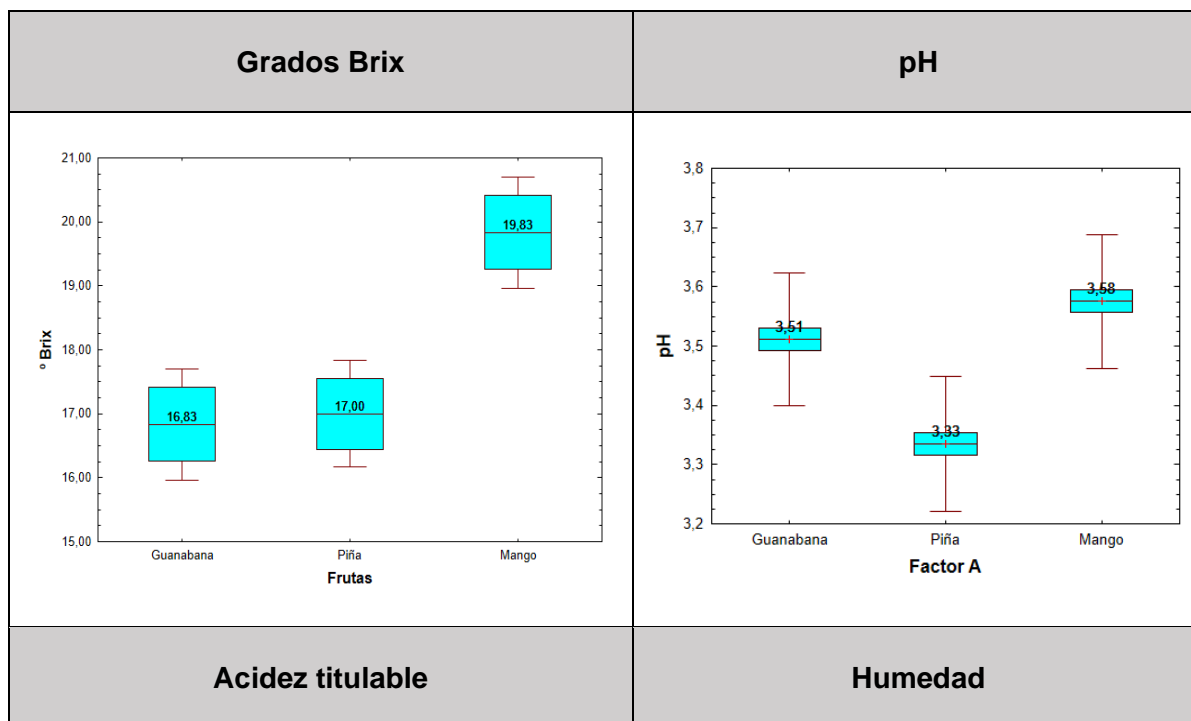
Tabla 28.

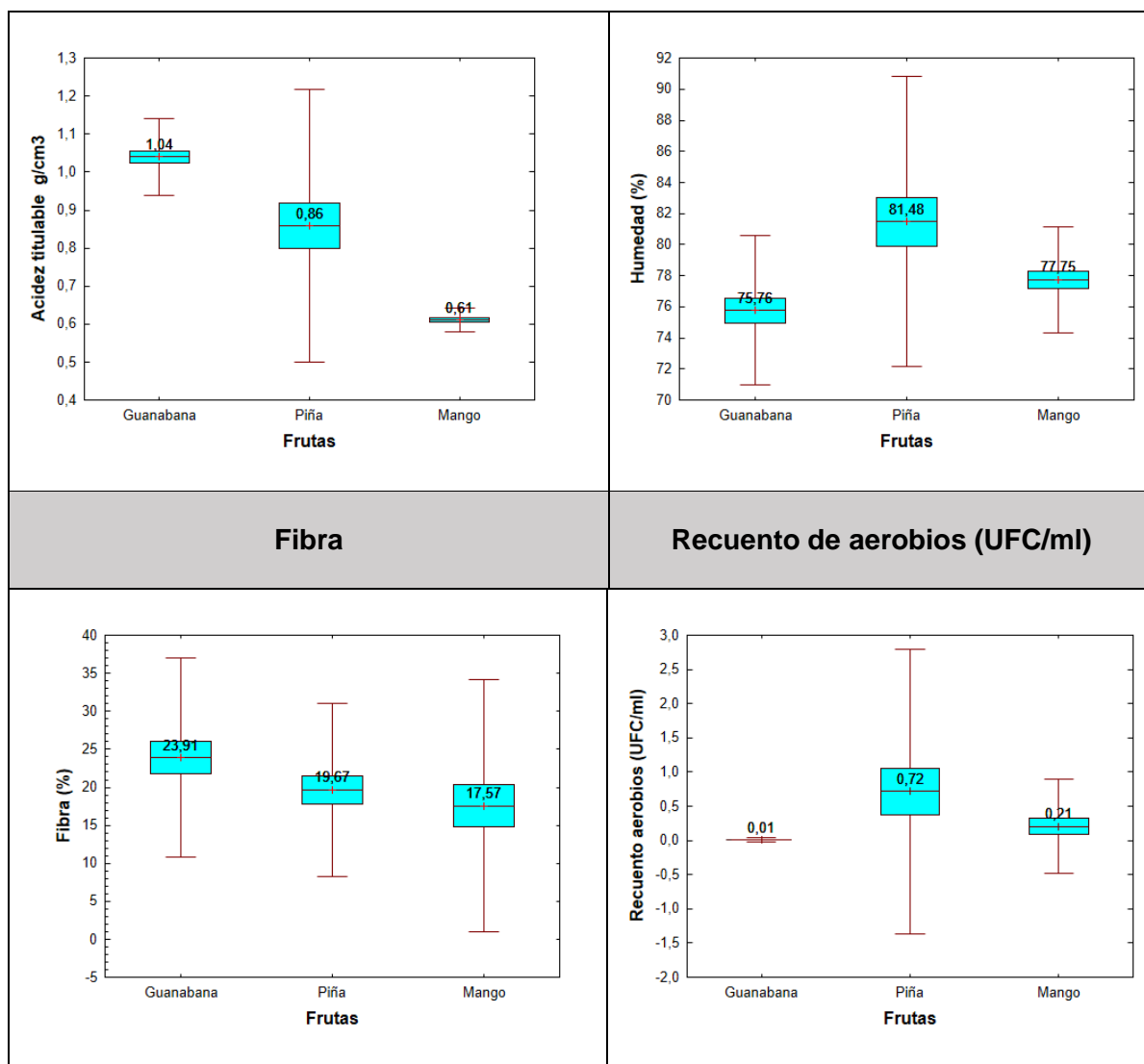
Resultados del análisis de Tukey para el factor A en las variables físico-químicas y microbiológicas.

Factor A (Frutas)	° Brix	pH	Acidez titulable	Humedad	Ceniza	Fibra	Recuento Aerobios (UFC/ml)
a0 Guanábana	16,83 ^B	3,51 ^B	1,04 ^A	75,76 ^B	18,34 ^A	23,91 ^A	0,01 ^C
a1 Piña	17 ^B	3,33 ^C	0,86 ^B	81,48 ^A	18,18 ^A	19,67 ^{AB}	0,72 ^A
a2 Mango	19,83 ^A	3,58 ^A	0,61 ^C	77,75 ^B	18,11 ^A	17,57 ^B	0,21 ^B

Figura 6.

Prueba de significancia de las características fisicoquímicas de los productos de III Gama (pulpas congeladas de frutas) según las frutas (Factor A).





Conforme a los resultados obtenidos en la prueba de Tukey para el factor A (frutas) presentado en la figura 6, de los análisis físico-químicos y microbiológicos se destacan las siguientes observaciones: En grados brix, el valor más alto fue el del mango (19,83), seguido por la piña (17) y finalmente la guanábana (16,83). Para el caso del pH, el valor más alto se obtuvo con mango (3,58); mientras que, en segundo lugar, guanábana (3,51) y la piña a continuación (3,33).

En cuanto a la acidez titulable, el valor más bajo se halló con el mango (0,61), seguido por la piña (0,86) de manera ascendente hasta que se evidenció el valor más alto, en la guanábana (1,04).

La variable humedad se destacó con el valor más alto en la piña (81,48%), seguido por el mango de manera descendente (77,75%) y la guanábana (75,76%) que fue el valor más bajo. Para la variable fibra, la mayor exponente fue la guanábana (23,91%), seguida por la piña (19,67%) y el mango con el porcentaje más reducido (17,57%).

Para la variable fibra, la fruta que obtuvo el valor más alto fue la guanábana (23,91%), seguida por la piña (19,67%) y el mango con el porcentaje más reducido (17,57%). Finalmente, en cuanto al recuento de aerobios, la mayor cantidad se situó en la piña con 0,72 UFC/ml, seguida por el mango con 0,21 UFC/ml; no obstante, en el caso de la guanábana solo se hallaron 0,01 UFC/ml, por lo cual se ubicó en el último puesto.

Resultados considerando las Dosis de Nisina estudiadas (Factor A).

Prueba de significancia de Tukey para el Factor B (Dosis de nisina).

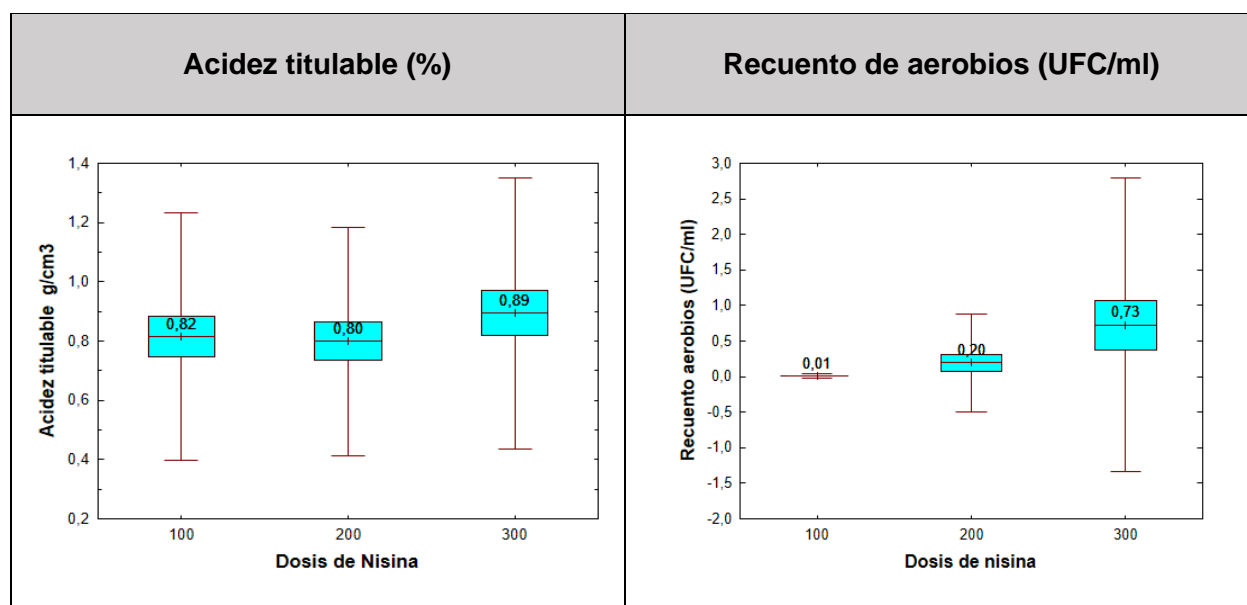
Tabla 29.

Resultados del análisis de Tukey para el factor B en las variables físico-químicas y microbiológicas.

Factor B (Dosis de Nisina)	Grados Brix	pH	Acidez titulable	Humedad	Ceniza	Fibra	Recuento Aerobios (UFC/ml)
b0 100 ppm	17,67 ^A	3,47 ^A	0,82 ^B	78,64 ^A	18,34 ^A	21,12 ^A	0,20 ^B
b1 200 ppm	18,00 ^A	3,50 ^A	0,80 ^B	79,45 ^A	18,18 ^A	19,65 ^A	0,01 ^B
b2 300 ppm	18,00 ^A	3,46 ^A	0,89 ^A	76,90 ^A	18,11 ^A	20,38 ^A	0,73 ^A

Figura 7.

Prueba de significancia de las características fisicoquímicas de los productos de III Gama (pulpas congeladas de frutas) según las dosis de nisina (Factor B).



Conforme a los resultados obtenidos en la prueba de Tukey para el factor B (dosis de nisina) presentado en la figura 7, de los análisis físico-químicos y microbiológicos se destacó lo siguiente; En acidez titulable el valor más alto se obtuvo con 300 ppm de nisina (0,89 g/cm³), seguido por 100 ppm de nisina (0,82 g/cm³) y en el último lugar, la dosis de 200 ppm (0,80 g/cm³).

En cuanto al recuento de aerobios, la mayor cantidad se halló con la dosis de nisina a 300 ppm, con 0,73 UFC/ml; mientras que la dosis de nisina a 200 ppm obtuvo 0,20 UFC/ml. La dosis con menor cantidad de UFC/ml fue nisina a 100 ppm (0,01).

Resultados considerando la Interacción (A*B).

Prueba de significancia de Tukey para la interacción A*B (Frutas*Dosis de nisina).

Tabla 30.

*Resultados de la prueba de Tukey para la interacción A*B en las variables físico-químicas y microbiológicas.*

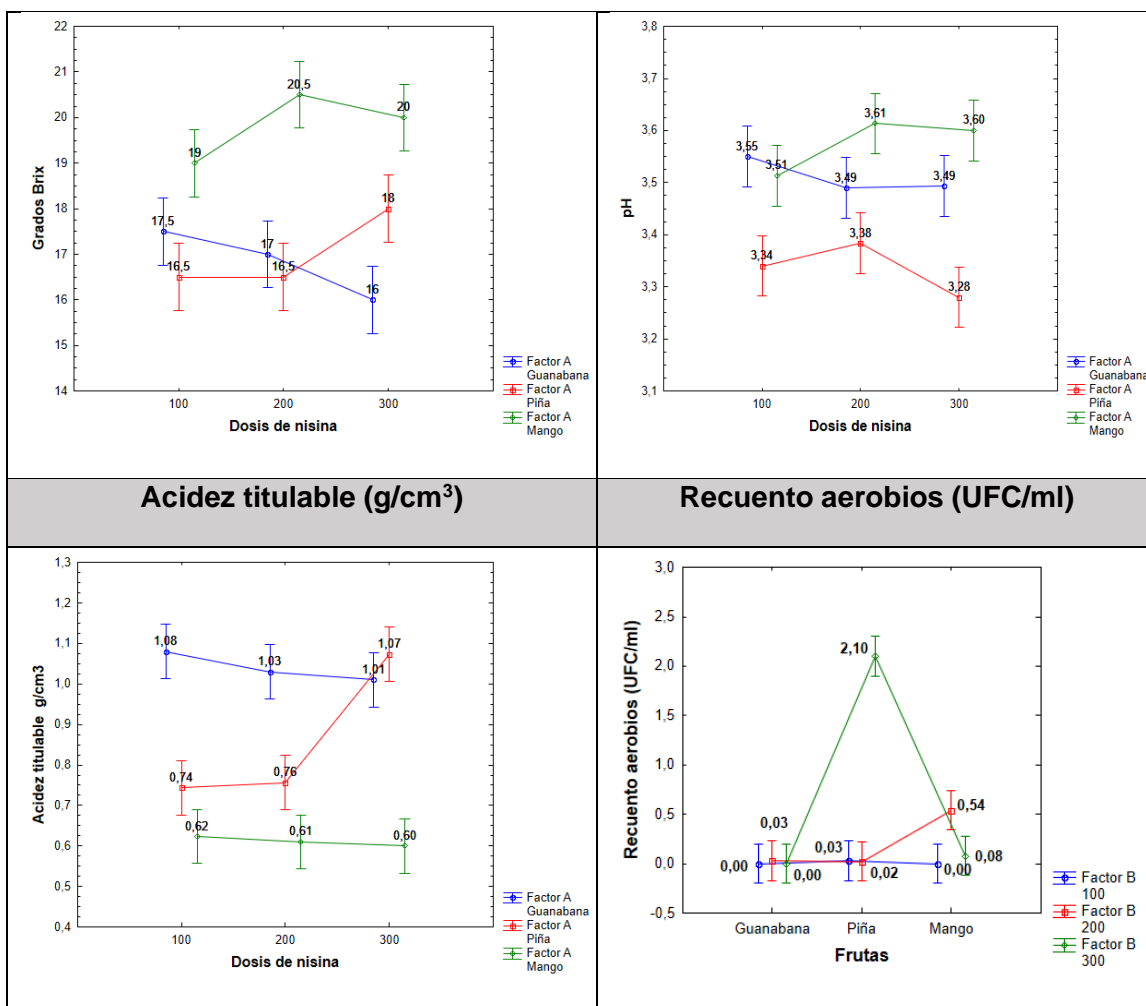
Interacción	A (Frutas)	B (Dosis de nisina)	Grados brix	pH	Acidez titulable	Humedad	Ceniza	Fibra	Recuento Aerobios (UFC/ml)
a0b0	Guanában	100	17,50 ^{BC}	3,55 ^A	1,08	73,64 ^B	18,54	19,91	0,00 ^C
	a	ppm	D		A		A	A	
a0b1	Guanában	200	17,00 ^{CD}	3,49 ^A	1,03	76,68 ^A	18,14	27,92	0,03 ^C
	a	ppm		B	A	B	A	A	
a0b2	Guanában	300	16,00 ^D	3,49 ^A	1,01	76,97 ^A	18,34	23,91	0,00 ^C
	a	ppm		B	A	B	A	A	
a1b0	Piña	100	16,50 ^{CD}	3,34 ^C	0,74	83,31 ^A	18,45	24,51	0,03 ^C
		ppm			B		A	A	

Interacción	A (Frutas)	B (Dosis de nisina)	Grados brix	pH	Acidez titulable	Humedad	Ceniza	Fibra	Recuento Aerobios (UFC/m)
a1b1	Piña	200 ppm	16,50 ^{CD}	3,38 ^B c	0,76 B	83,80 ^A	17,76 A	18,82 A	0,02 ^C
a1b2	Piña	300 ppm	18,00 ^{BC}	3,28 ^C	1,07 A	77,34 ^A	18,11 A	19,66 A	2,10 ^A
a2b0	Mango	100 ppm	19,00 ^{AB}	3,51 ^A B	0,62 B	78,98 ^A	18,21 A	18,94 A	0,00 ^C
a2b1	Mango	200 ppm	20,50 ^A	3,61 ^A	0,61 B	77,88 ^A	18,16 A	16,21 A	0,54 ^B
a2b2	Mango	300 ppm	20,00 ^A	3,60 ^A	0,60 B	76,40 ^A	18,18 A	17,57 A	0,08 ^{BC}

Figura 8.

*Prueba de significancia en las características físico-químicas de los productos de III Gama (pulpas congeladas de frutas) conforme a la interacción A*B.*

Grados Brix	pH
-------------	----



Conforme a los resultados obtenidos en la prueba de Tukey para el efecto de Frutas*Dosis de nisina (interacción A*B), la figura 8 muestra: en grados brix se halló mayor contenido en las interacciones Mango + 200 ppm de nisina (20,50° Brix) y Mango + 300 ppm de nisina (20° Brix), mientras que el más bajo se obtuvo con el tratamiento Guanábana + 300 ppm de nisina (16° Brix).

Por otra parte, se obtuvo pH más alto con Mango + 200 ppm (3,61) y Mango + 300 ppm (3,60); no obstante, el valor más bajo estuvo representado por Piña + 300 ppm (3,28).

La acidez titulable presentó el valor más alto en Guanábana + 100 ppm (1,08 g/cm³), seguido por Piña + 300 ppm (1,07 g/cm³); entre tanto, el valor más bajo se situó en Mango + 300 ppm (0,60 g/cm³).

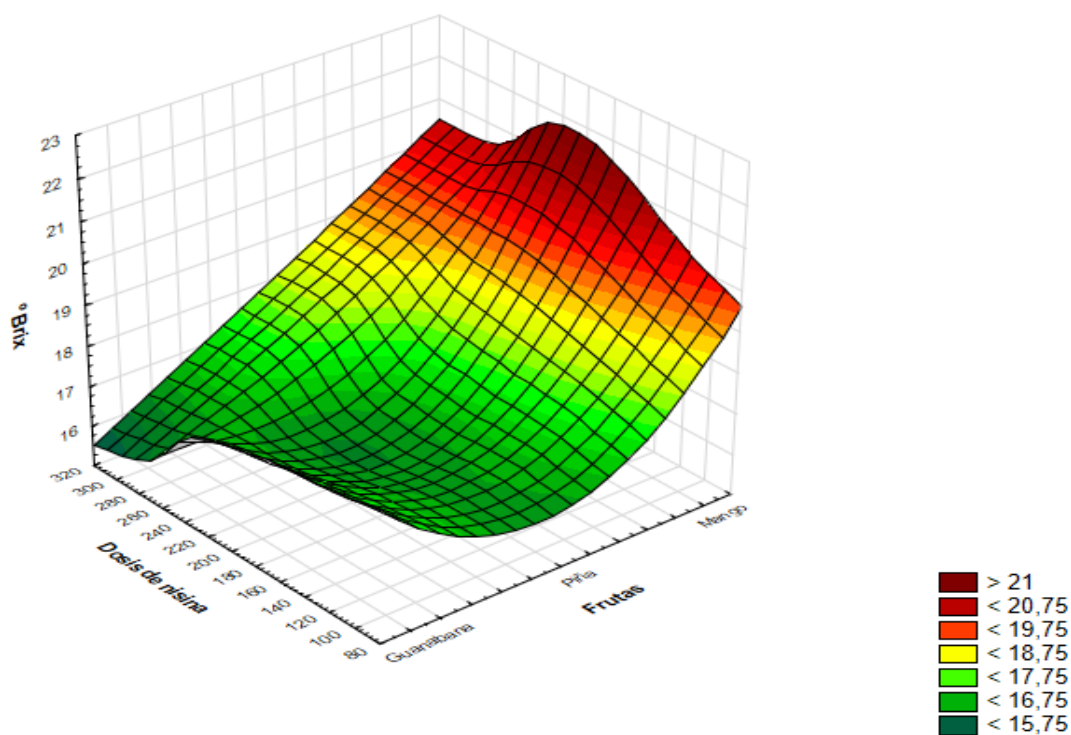
El recuento de aerobios (UFC/ml), obtuvo la cantidad más alta con Piña + 300 ppm de nisina (2,10 UFC/ml); seguida solamente por Mango + 200 ppm de nisina (0,54 UFC/ml); no obstante, no existieron UFC/ml en los tratamientos donde se utilizó la dosis de 100 ppm de nisina.

Resultados Gráficos de Superficie de Respuesta.

Superficie de respuesta para Grados Brix.

Figura 9.

Superficie de respuesta para Grados Brix.

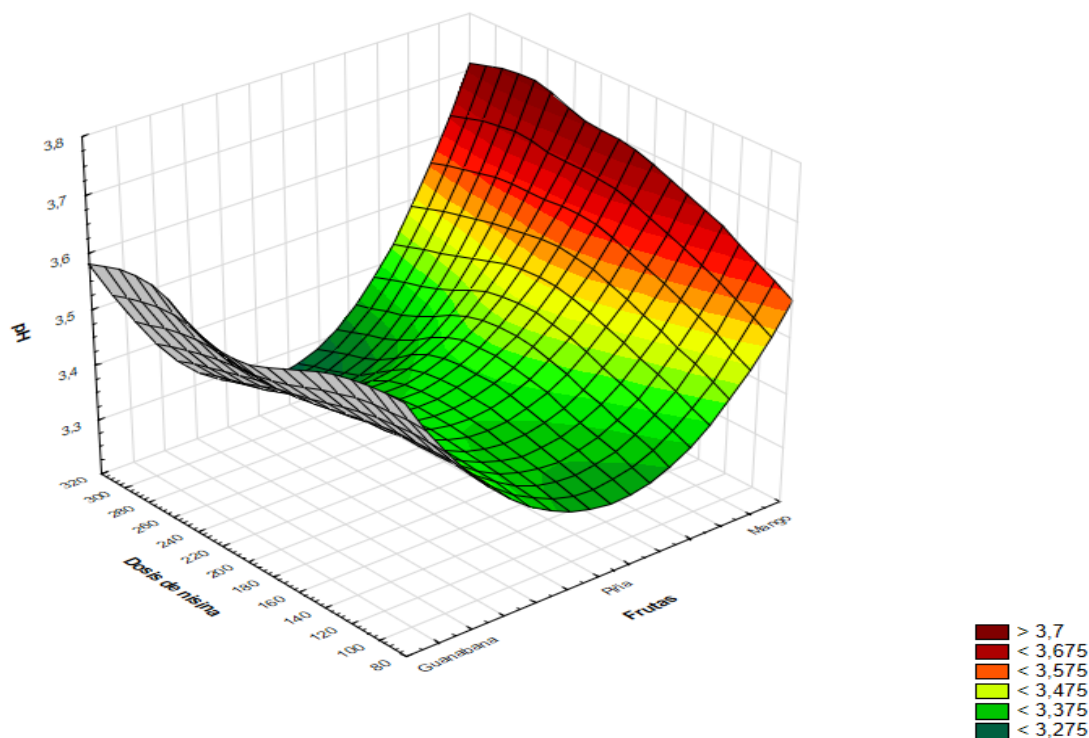


La figura 9, expone el gráfico de superficie para grados brix, en el cual, se observan a los valores más altos representados por la coloración rojo vino, donde se destaca el mango en conjunto con la dosis de nisina de 200 ppm; mientras que, los valores más reducidos se presentan en la sección izquierda donde el gráfico muestra una coloración verde intensa, en específico para Guanábana + 300 ppm de nisina.

Superficie de Respuesta para pH

Figura 10.

Superficie de respuesta para pH.



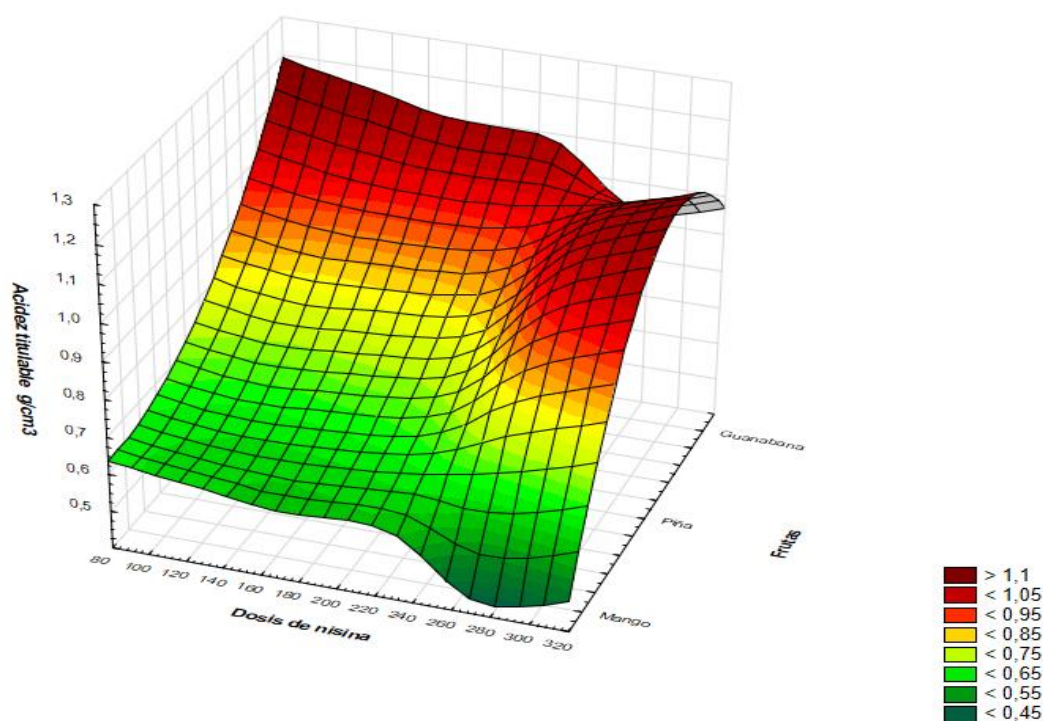
En la figura 10, para pH los valores de máxima cuantía estuvieron diferenciados por la coloración rojo vino; donde la cantidad más alta se halló con Mango + 200 ppm de

nisina y Mango + 300 ppm de nisina. Mientras que, el valor más bajo representado por el color verde intenso en el medio, situado en la Piña + 300 ppm y Piña + 200 ppm.

Superficie de Respuesta para acidez titulable

Figura 11.

Superficie de respuesta para acidez titulable.

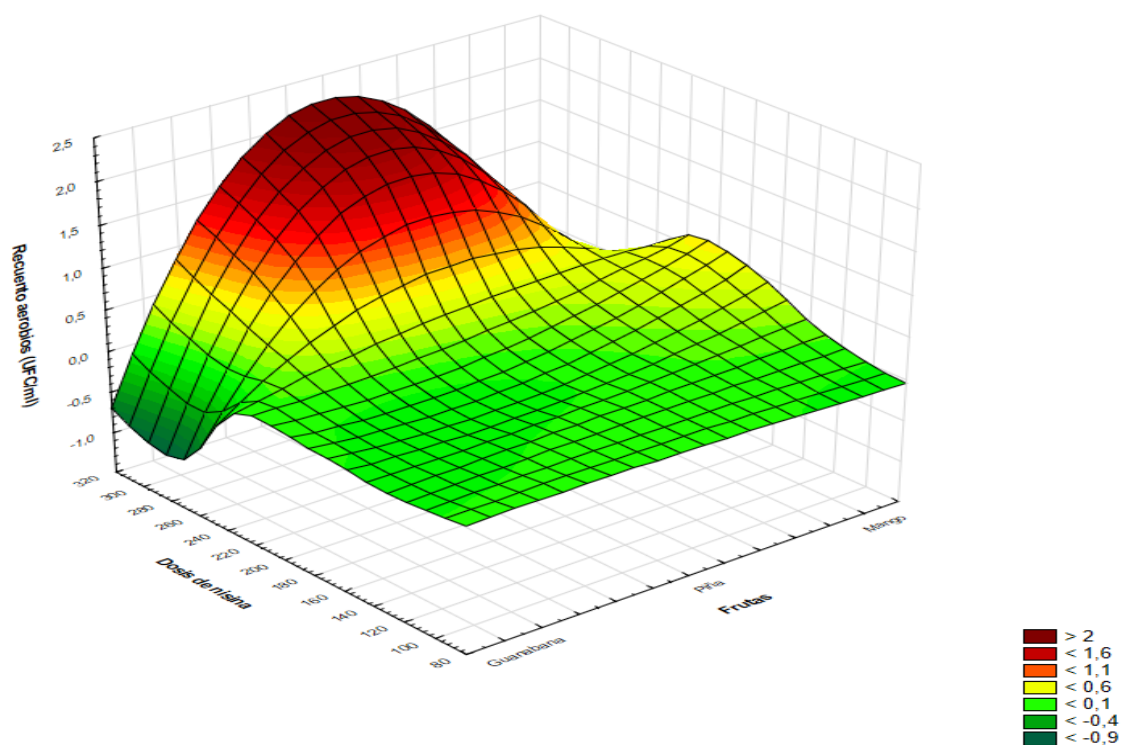


La figura 11, en el caso de la acidez titulable (g/cm³) el tratamiento que obtuvo mayor valor en este parámetro fue Guanábana + 100 ppm de nisina y Piña + 300 ppm, representados por el color rojo vino; entre tanto, los valores más bajos radicaron en Mango + 300 ppm y Mango + 200 ppm, en la esquina inferior derecha con el color verde oscuro.

Superficie de Respuesta para Recuento de Aerobios

Figura 12

Superficie de respuesta para recuento de aerobios.



La figura 12, representa a recuento de aerobios (UFC/ml) donde se observa que el valor con mayor cantidad de UFC/ml la obtuvo Piña + 300 ppm de nisina y Piña + 300 ppm, distinguida por la coloración rojo vino; mientras que, los valores más bajos se situaron con Mango + 200 ppm que estuvo representado por el color amarillo.

Análisis de componentes principales

Tabla 31.

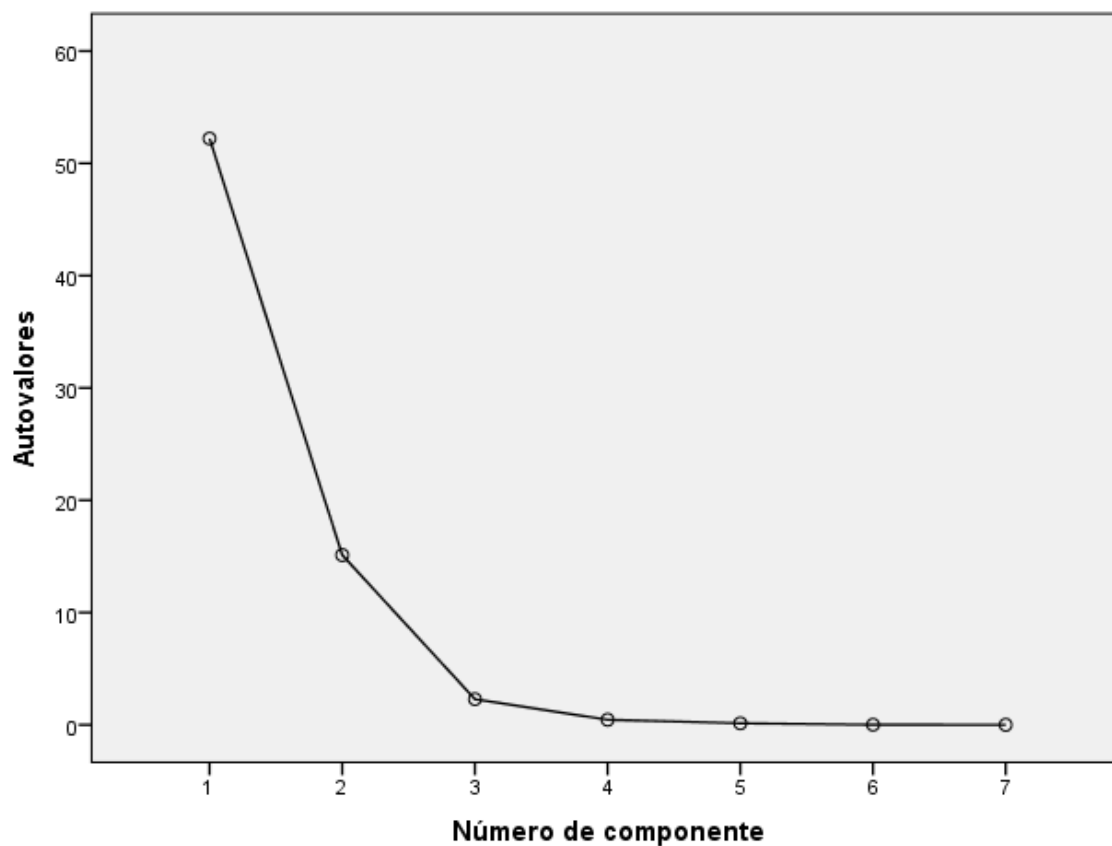
Matriz de correlación de los componentes principales.

Matriz de correlaciones								
	pH	Acidez titulable	Humedad	Grados Brix	Fibra	Ceniza	Recuento de aerobios	
Correlación	pH	1,000	-,365	-,421	,592	,063	-,074	-,500
	Acidez titulable	-,365	1,000	-,422	-,590	,127	,355	,291
	Humedad	-,421	-,422	1,000	-,270	-,240	-,138	-,084
	Grados Brix	,592	-,590	-,270	1,000	-,039	-,204	,196
	Fibra	,063	,127	-,240	-,039	1,000	-,451	-,091
	Ceniza	-,074	,355	-,138	-,204	,451	1,000	-,039
	Recuento de aerobios	-,500	,291	-,084	,196	-,091	-,039	1,000

En la tabla 31, se evidencia que, entre las variables: pH y grados brix; acidez titulable y ceniza, existe una moderada correlación (0,592 y 0,355), mientras que las variables; acidez titulable y recuento de aerobios, presentan una correlación débil (0,291).

Figura 13

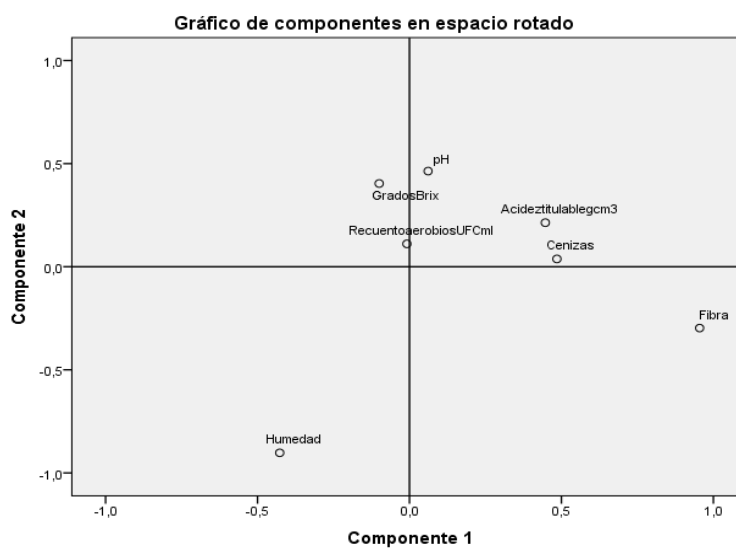
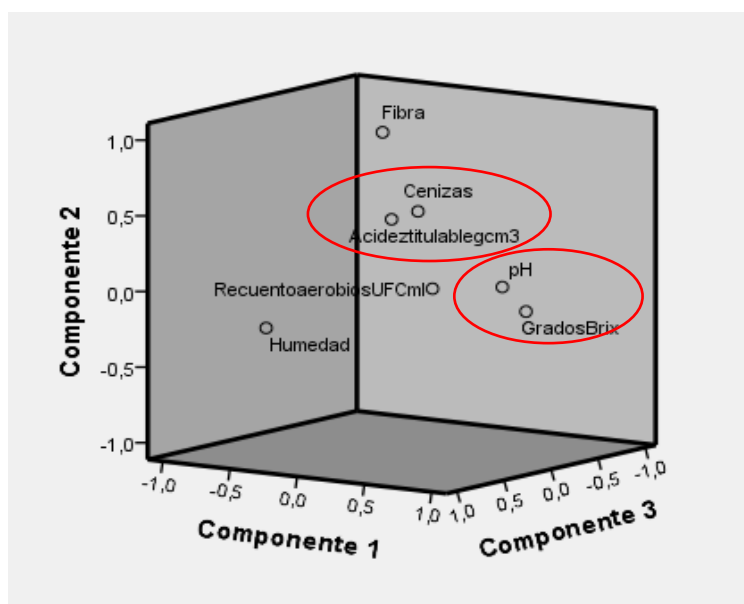
Gráfico de sedimentación.



La figura 13 expone los componentes analizados en esta investigación a través de numeraciones; lo que permitió elegir las variables con autovalores mayores a 1; mismas que, influyen mayoritariamente dentro del diseño, entre las cuales se destacan: pH y acidez titulable con porcentajes de varianza de 74,37% y 21,53% respectivamente.

Figura 14.

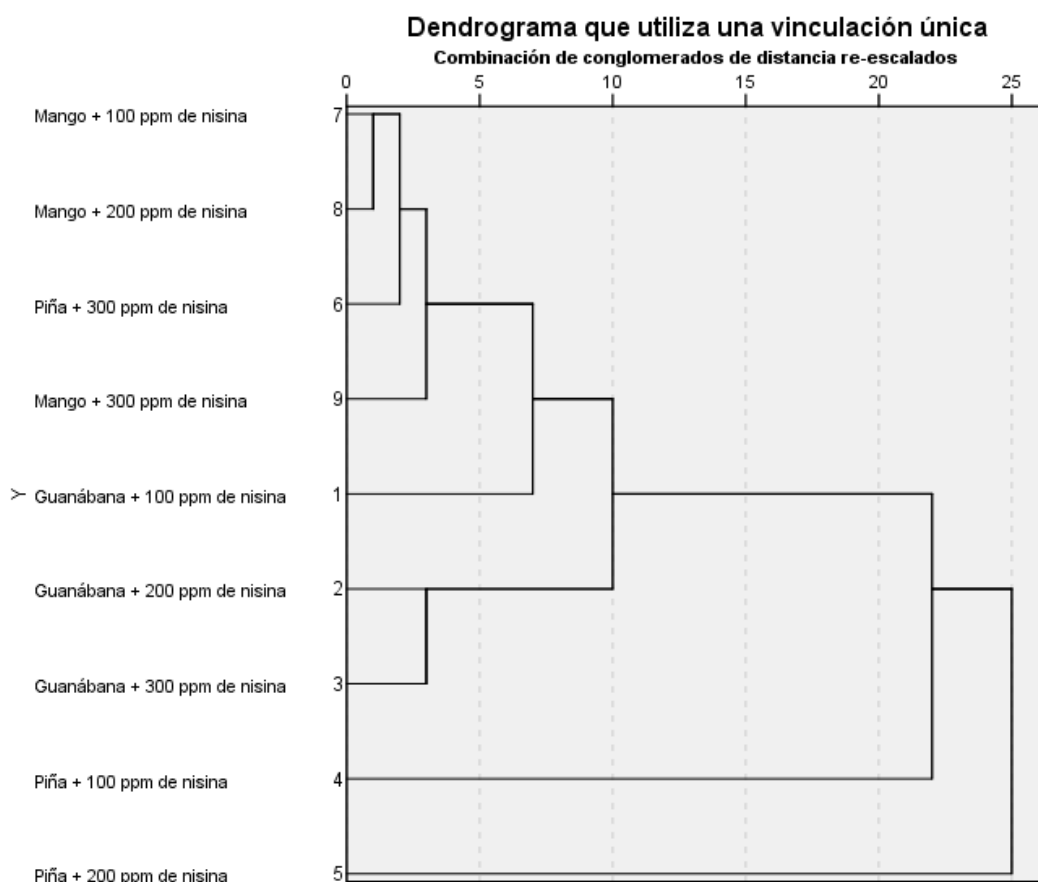
Gráfico de componentes principales.



En la figura 14 se muestran las variables ubicadas en cada componente, donde se evidencia la existencia de dos correlaciones entre las variables: pH y grados brix, así como también en acidez titulable y cenizas, hecho que se confirma a través de la gráfica inferior del modelo 2D, donde se presentan sus respectivas correlaciones.

Figura 15.

Resultado de análisis de conglomerados.



La figura 15 expone el dendrograma resultante del análisis de conglomerados, en donde se muestra que a medida que las distancias se acortan entre tratamientos se demuestra una gran similitud en función de las variables evaluadas, de tal manera que, en el gráfico descrito se evidencia que los tratamientos Mango + 100 ppm de nisina y Mango + 200 ppm de nisina presentan una estrecha relación comparadas frente a los demás tratamientos.

Resultados Cualitativos

Recuento de mohos y levaduras

Tabla 32.

Resultado del análisis microbiológico procedente del recuento de mohos y levaduras en los diferentes tratamientos.

Codificación	Descripción	Recuento de mohos y levaduras (UP/ml)
a0b0	Guanábana + 100 ppm de nisina	No detectados
a0b1	Guanábana + 200 ppm de nisina	No detectados
a0b2	Guanábana + 300 ppm de nisina	No detectados
a1b0	Piña + 100 ppm de nisina	No detectados
a1b1	Piña + 200 ppm de nisina	No detectados
a1b2	Piña + 300 ppm de nisina	No detectados
a2b0	Mango + 100 ppm de nisina	No detectados
a2b1	Mango + 200 ppm de nisina	No detectados
a2b2	Mango + 300 ppm de nisina	No detectados

En la tabla 32, se puede observar los diferentes tratamientos evaluados en el recuento de mohos y levaduras, donde no existió presencia alguna de unidades propagadas por cada milímetro.

Identificación microbiológica

Tabla 33.

Resultado de la identificación microbiológica a partir del tratamiento con mejores características.

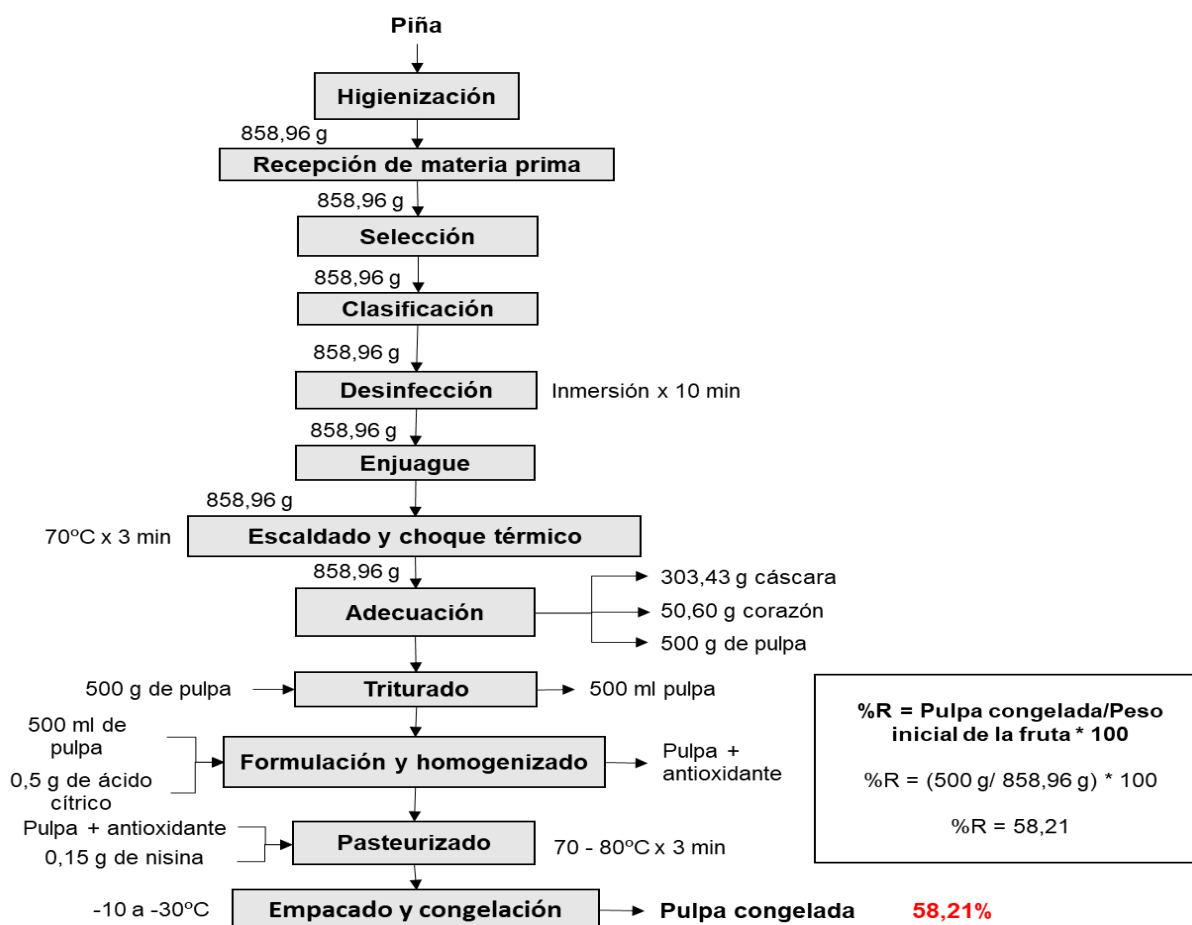
Codificación	Descripción	Salmonella	E. coli	Coliformes	Enterobacterias
a ₁ b ₂	Piña + 300 ppm de nisina	---	---	---	---

En la tabla 33, se observa que no se encontraron colonias de *Salmonella*, *E. coli*, coliformes o enterobacterias; microorganismos que se consideran perjudiciales para la salud humana.

Balance de materiales del mejor tratamiento (a₁b₂)

Figura 16.

Diagrama de flujo de la obtención de la pulpa congelada del mejor tratamiento.



Capítulo V

Discusión

Frutas (Factor A)

La guanábana posee un dulzor muy marcado puesto que puede lograr entre 8,2 a 24 grados brix (Tiscama, 2021). Por lo cual, dentro de este rango se encuentran los 16,83 grados Brix obtenidos para esta fruta en esta investigación. Para la piña se mencionan valores de 11,9 a 13,6 (Dávila, 2022), cantidades que fueron menores al obtenido en nuestro trabajo, que fueron 17 grados brix. No obstante, en la pulpa de mango, Betancourt (2022) evidenció 21,39 grados brix, sin embargo, en este estudio se obtuvo 19,83.

Además, Valladolid (2018) expone un valor de 3,0 a 4,0 para la variable pH en la pulpa de esta fruta; rango que abarca al obtenido en este estudio que fue de 3,51. Mientras que, en el puré de piña, se han hallado valores de 4,2 a 3,7 (Dávila, 2022), similares al obtenido en esta investigación con 3,33. Finalmente, en la pulpa de mango, Betancourt (2022) señaló un pH de 3,6 , pero en este caso este valor fue menor con 3,58.

Mientras que Rodríguez (2022), para acidez titulable ha hallado rangos entre 0,47 a 1,04; siendo este último valor igual al obtenido en la pulpa de guanábana. En la piña, en cambio, se han situado rangos de 0,9 a 0,6 (Dávila, 2022), por lo cual se asemejan a los obtenidos en este caso con 0,86. En cuanto a la pulpa de mango se han hallado valores de 0,61 a 0,29 (Rivera, 2018); por lo cual, este valor es igual al obtenido con 0,61.

Atiscama (2021) señala que debido al pH y el nivel de acidez se manifiesta el dulzor (grados brix) puesto que, en las frutas climatéricas (guanábana y mango), durante su pico de maduración luego de ser cosechadas la acidez es mayor debido a la catálisis del almidón, la transformación de carbohidratos y las sales a una forma soluble. Sin embargo, para que estos frutos sean más dulces influye el tipo de suelo y la luminosidad (Parra y otros, 2019).

Por otra parte, Duchi (2021) señaló un 82,20% que es superior al obtenido en la pulpa de guanábana que, fue de 75,76%. Mientras que, Moreira y otros (2021) determinaron un 85,32% de humedad en pulpa de piña; valor que es superior al hallado en este caso, con 81,48%. Entre tanto, para la pulpa de mango Betancourt (2022) manifestó 77,84%, que se considera bajo para el logrado en este estudio con 81,48%.

En cambio, la cantidad de humedad se debe a las condiciones climáticas de la zona en donde se producen las frutas; puesto que, en sitios con mayor altitud el tamaño y peso de los frutos es mayor, por lo cual en la fase de postcosecha existirá una mejor manipulación ya que la pérdida de peso será reducida (Parra y otros, 2019).

En el caso de las cenizas, aunque no existieron diferencias de significancia estadística entre las pulpas; Mora (2020) expresa que en la pulpa de guanábana se han hallado porcentajes que van del 0,79 % al 3,82 % para cenizas; de 0,1 % a 2 % en la pulpa de piña (Peralta, 2020) y entre 3,4 % a 5 % para la pulpa de mango (Rivera V. , 2020); valores que resultan ser inferiores a los obtenidos en este estudio ya que, en las pulpas estudiadas, se halló 18,34 % para guanábana, 18,18 % en piña y 18,11% en mango.

La cantidad de cenizas en los frutos tiene mucho que ver con la riqueza mineral de la solución del suelo en donde se ha establecido el cultivo, así como también las condiciones climáticas y los diferentes procesos fisiológicos que permiten la acumulación de ciertos minerales en los tejidos de almacenamiento (López y otros, 2022).

Aunque los valores de fibra no presentaron diferencias significativas, es importante recalcar que los valores obtenidos en esta investigación fueron superiores a la fibra cruda que señalan en guanábana y piña, López y otros (2022) quienes hallaron 1,16% y 0,4% respectivamente; valores que fueron inferiores al 23,91% hallado para guanábana y 19,67% para piña. Mientras que, para la pulpa de mango Rivera V. (2020) halló entre 22,42 % a 34,33 % de fibra, valores que no se asemejan al obtenido en este estudio, puesto que se situó en 17,57%.

La fibra es un parámetro esencial para la dieta humana, de tal forma que se considera necesario consumir entre 21 a 38 g diariamente dependiendo del sexo y edad del consumidor; puesto que, permite prevenir o controlar afecciones cardiovasculares, hipertensión, diabetes e incluso el cáncer ya que permite mejorar el tránsito intestinal (López y otros, 2022); por lo cual, el consumir pulpas de frutas como la guanábana, piña y mango es beneficioso para la salud.

Dosis de nisina (Factor B)

La nisina al ser una bacteriocina naturalmente ácida, trabaja muy bien en pH ácido por lo cual su máxima solubilidad y estabilidad ocurre a un pH de 2 (Cano y otros, 2015). Esto debido al elevado pKa de las lisinas que se mantienen cuando el medio es ácido; para que su eficiencia sea positiva, es necesario controlar proteasas y oxidantes;

así como también detergentes aniónicos y cationes divalente puesto que causan la inhibición de su actividad (Ollé, 2015).

Conforme a Catagña (2021) la nisina posee un modo de acción dual sobre los microbios mediante adherencia electrostática, donde genera una desestabilización de la membrana celular para generar aberturas y así propiciar la fuga de compuestos que sirven para la síntesis de macromoléculas como: ATP, aminoácidos y fosfatos; hecho que, con el paso del tiempo genera la muerte de la célula. En la agro-industrialización de frutas y verduras se ha reportado efectos positivos contra *Bacillus stearothermophilus* y *Clostridium thermosaccharolyticum*.

Interacción A*B (Frutas-Dosis de nisina)

El mínimo de sólidos solubles aceptado, según la el Instituto Ecuatoriano de Normalización (2008) correspondiente a la norma técnica INEN 2 337, las pulpas sean aptas para el consumo cuando, poseen 11 ° Brix para Guanábana y Mango, mientras que, para Piña se sitúa en 10 ° Brix. Dichos valores abarcan los obtenidos en esta experimentación.

El pH es un punto crítico para los productos alimenticios que tienen como base las frutas ya que de este parámetro depende la actividad enzimática, el desarrollo de microorganismos y la estabilidad del producto (Méndez y otros, 2016). Esta dependerá también de la calidad en cuanto a la madurez las frutas; motivo por el cual, existe también un nivel de significancia importante para la acidez titulable.

Por otra parte, la humedad obtenida demostró el nivel de jugosidad que tenían las pulpas (Méndez y otros, 2016); siendo la pulpa de piña la más jugosa en la

combinación de piña + 100 ppm de nisina con 83,31% y piña + 200 ppm de nisina con 83,80% de humedad.

Conforme al Instituto Ecuatoriano de Normalización (2008) los requisitos para pulpas estipulados por la norma INEN 1529-10 para productos congelados, permite un rango de $1,0 \times 10^2$ hasta $1,0 \times 10^3$ en el recuento de mohos y levaduras UP/cm³.

Capítulo VI

Conclusiones

Factor A (Frutas)

En cuanto a las variables fisicoquímicas y microbiológicas evaluadas en las pulpas congeladas, se demostró la existencia de diferencias significativas donde, el mango registró el mayor contenido de grados brix con 19,83, así como también en pH (3,58), luego de la aplicación de las dosis de bioconservante estudiadas. Los grados brix del mango se encuentran dentro del rango especificado por la norma técnica INEN 2 337, que califica a la pulpa, como apta para el consumo.

No obstante, para las variables humedad y recuento aerobios; la piña demostró superioridad con valores de 81,48% y 0,72 UFC/ml de manera respectiva.

En cuanto a la acidez titulable (1,04 g/cm³) y fibra (23,91%), la guanábana obtuvo mayores cantidades versus el resto de frutas empleadas para las pulpas.

Solamente en ceniza, las diferentes pulpas de frutas sometidas a evaluación, no presentaron diferencias significativas. Al igual que, en el recuento de mohos y levaduras, no se encontró rastro de unidades de propagación.

En base a lo previamente descrito, se acepta la hipótesis alternativa y se concluye que las características fisicoquímicas y microbiológicas de los distintos productos de III Gama (pulpas congeladas de frutas) sí cambiaron luego de la aplicación del bioconservante; siendo, la pulpa de piña la que demostró mejores características en este estudio.

Factor B (Dosis de nisina)

En cuanto al estudio del efecto de las dosis de nisina como bioconservante sobre las pulpas de fruta congelada, se demostró la existencia de diferencias significativas con 300 ppm de nisina en el caso de la variable acidez titulable (0,89 g/cm³) y el recuento de aerobios (0,73 UFC/ml).

Sin embargo, en las variables: grados brix, pH, humedad, ceniza y fibra no mostraron diferencias entre las dosis de nisina evaluadas.

Además, tampoco fue posible hallar rastros de mohos y levaduras; resultado es satisfactorio puesto que, conforme a la norma INEN 1529-10 para productos congelados, el rango permitido es de $1,0 \times 10^2$ hasta $1,0 \times 10^3$ en el recuento de mohos y levaduras UP/ml.

Conforme a lo anteriormente manifestado, se acepta la hipótesis alternativa y se concluye que las distintas concentraciones de nisina como bioconservante, en los productos de III Gama (Pulpas congeladas de frutas) sí extienden su vida útil; puesto que, solo se hallaron diferencias en dos variables, pero no se halló presencia de mohos y levaduras en ninguno de los tratamientos.

Interacción AxB (Dosis de nisina)

Los factores evaluados en esta investigación presentaron diferencias según la prueba de significancia de Tukey al 5% para las variables: grados brix, pH, acidez titulable, humedad, ceniza, fibra y recuento de aerobios (UFC/ml). No obstante, debido a la nula presencia de mohos y levaduras (UP/ml) en cada uno de los tratamientos, se utilizó una tabla descriptiva.

El mejor tratamiento para optimizar la elaboración de alimentos de III Gama (pulpas congeladas de fruta) con diferentes dosis de nisina como bioconservante fue a₁b₂ correspondiente a piña + 300 ppm de nisina; ya que obtuvo los mejores resultados en cuanto a grados brix (18), pH (3,28), acidez titulable (1,07), humedad (77,34%), ceniza (18,11%), fibra (19,66%) y recuento de aerobios (2,10 UFC/ml) con nula presencia en la detección de mohos y levaduras.

Además, según el análisis para diferenciación de *Salmonella*, *E. coli*, Coliformes y Enterobacterias direccionado para este tratamiento no presentó UFC/ml; incluso, se determinó para este tratamiento un rendimiento de 58,21%.

Conforme a las manifestaciones previamente suscitadas se aceptan las hipótesis alternativas; puesto que, la elaboración y el rendimiento de las pulpas de los diferentes productos de III Gama sí difirió entre las frutas: guanábana (*Anona muricata*), piña (*Ananas comosus*) y mango (*Mangífera indica*).

Recomendaciones

Con respecto a las frutas utilizadas para la obtención de alimentos de III Gama (pulpas congeladas de frutas), en relación a los grados brix, humedad, ceniza, fibra y recuento de aerobios se recomienda la piña; puesto que, no existe mayor influencia en sus valores. No obstante, en cuanto a grados brix, pH y ceniza, es aplicable el uso en la pulpa del mango. De la misma manera, si se toma en cuenta, acidez titulable, ceniza y fibra se recomienda el uso de la guanábana.

Referente a la utilización de las dosis de nisina, en relación a grados brix, pH, humedad, ceniza y fibra se recomienda el empleo de 300 ppm de nisina debido a que

los valores expuestos no reflejaron mayor diferencia en estas características fisicoquímicas; sin embargo, para acidez titulable se aconseja utilizar una concentración de 100 ppm.

Frente a los resultados obtenidos en la presente investigación, se recomienda a futuras investigaciones orientadas a la producción de alimentos de III Gama (pulpas congeladas de frutas), el empleo de nisina puesto que controla el crecimiento de mohos y levaduras, así como también de Salmonella, *E. coli*, Coliformes y Enterobacterias; además permite conservarlos sin alterar sus características físico químicas y mejora su calidad microbiológica.

gBibliografía

- Agriopoulou, S., Stamatelopoulou, E., Sachadyn, M., & Varzakas, T. (2020). Lactic Acid Bacteria as Antibacterial Agents to Extend the Shelf Life of Fresh and Minimally Processed Fruits and Vegetables: Quality and Safety Aspects. *Microorganisms*, 8(6), 2-24. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8060952>
- Agrocalidad. (Enero de 2022). *Boletín informativo. Exportaciones de mango ecuatoriano*. <https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2022/01/Boletin-informativo-exportaciones-de-mango-ecuatoriano.pdf>
- Agrocalidad. (16 de Febrero de 2022). *En 2021 se exportaron casi 100 mil toneladas de piña ecuatoriana*. <https://www.agrocalidad.gob.ec/en-2021-se-exportaron-casi-100-mil-toneladas-de-pina-ecuatoriana/#:~:text=DE%20PI%C3%91A%20ECUATORIANA-,EN%202021%20SE%20EXPORTARON%20CASI%20100%20MIL%20TONELADAS%20DE,Quito%2C%2016%20de%20febrero%202022.>

Alonso, J. (30 de Septiembre de 2020). *América Latina y El Caribe pierden 220 millones de toneladas de alimentos al año*. DW: <https://www.dw.com/es/am%C3%A9rica-latina-y-el-caribe-pierden-220-millones-de-toneladas-de-alimentos-al-a%C3%B1o/a-55111025>

Álvarez, N., & Guevara, D. (2020). *Estudio de la cinética del crecimiento en el proceso fermentativo de abacá (Musa textilis) para la bioconservación y la producción de alcohol con fines industriales. Tesis de pregrado*. Santo Domingo : Universidad de las Fuerzas Armadas - ESPE. <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/21413/1/T-ESPE-003050.pdf>

Betancourt, D. (2022). *Sistema web para el control de la producción de la pulpa de mango. Examen Complexivo*. Universidad Agraria del Ecuador. <https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/BETANCOURT%20CARBO%20DENISSE%20CAROLINA.pdf>

Burks, A., & Wesley, M. (2020). *Middleton's Allergy: Principles and Practice, Ninth Edition*. Elsevier. <https://doi.org/ISBN: 9780323546980>

Cano, D., Gómez, M., Oviedo, V., & Ríos, L. (2015). Nisina como conservante de alimentos: revisión sistemática de literatura. *Hechos Microbiol*, 6(1-2), 52-64. https://bibliotecadigital.udea.edu.co/bitstream/10495/12939/1/CanoDaniela_2015_NisinaConservanteAlimentos.pdf

Carnelossi, M., Adelson, J., Araujo, H., & Teixeira, A. (2015). Stability, antimicrobial activity, and effect of nisin on the physico-chemical properties of fruit juices. *International Journal of Food Microbiology*, 38-43.

<https://www.researchgate.net/deref/http%3A%2F%2Fdx.doi.org%2F10.1016%2Fj.ijfoodmicro.2015.06.029>

Castellanos, J., Galvis, J., Pérez, R., Grande, M., Lucas, R., & Gálvez, A. (2022). Las bacteriocinas y su efecto sinérgico con tecnologías emergentes en alimentos. *MUTIS*, 12(2), 1-25. <https://doi.org/10.21789/22561498.1841>

Catagña, R. (2021). *Revisión bibliográfica sobre las bacteriocinas y su aplicación como bioconservante dentro de la industria alimentaria*. . Universidad Nacional de Chimborazo.
<http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/8643/1/8.%20Tesis%20final.pdf>

Cortez, B. (2020). *Influencia del mango (Mangífera indica) y babaco (Vasconcellea x heilbornii) en las características organolépticas de una cerveza artesanal. Tesis de Pregrado*. Universidad Agraria del Ecuador.
<https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/CORTEZ%20QUINTO%20BETTY%20JAEL.pdf>

Dávila, S. (2022). *Aislamiento y caracterización de bacterias ácido lácticas en dos variedades de abacá (mucílago), Bungalonón y Tangongón, para la bioconservación de papaya (Carica papaya) y piña (Ananas comosus). Tesis de pregrado*. Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE. <http://repositorio.espe.edu.ec/jspui/bitstream/21000/28906/1/T-ESPE-003201.pdf>

Dilucia, F., Lacivita, V., Conte, A., & Del Nobile, M. (2020). Sustainable Use of Fruit and Vegetable By-Products to Enhance Food Packaging Performance. *Foods*, 9(7), 1-19. <https://doi.org/10.3390/foods9070857>

- Domínguez, G. (2019). *Estudio de las características físico químicas de la piña (Ananas comosus y Cayena Lisa) para la obtención de pulpa celulósica. Tesis de pregrado.* Universidad Técnica Estatal de Quevedo.
<https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/4126/3/T-UTEQ-120.pdf>
- Duchi, N. (2021). *Métodos de extracción y valoración de ácidos grasos de la almendra de guanábana (Annona muricata). Tesis de Pregrado.* Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/15521/1/27T00473.pdf>
- El Universo. (29 de Septiembre de 2020). *Ecuador desperdicia 939.000 toneladas métricas de alimentos al año, es uno de los países que más desecha comida en América Latina.*
<https://www.eluniverso.com/noticias/2020/09/29/nota/7995577/desperdicio-alimentos-ecuador-fao-sostenibilidad-economia-wwf/>
- Ferri, F. (2022). *Ferri's clinical advisor.* Elsevier. <https://doi.org/ISBN-13: 9780323755702>
- García, F., Bejarano, D., Paredes, L., Vega, R., & Encinas, J. (2018). La deshidratación osmótica mejora la calidad de Ananas comosus deshidratada. *Scientia Agropecuaria*, 9(3), 349-357. <http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2018.03.06>
- Guanochanga, J. (2021). *Diseño de un proceso tecnológico para la obtención de pulpa congelada a partir de orito (Musa acuminata AA) para la Planta Hortofrutícola Ambato PLANHOFA. Tesis de Pregrado.* Universidad Técnica de Ambato.
<https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/32660/1/AL%20784.pdf>
- Instituto Ecuatoriano de Normalización. (1985). *NTE INEN 380. Conservantes vegetales. Determinación de sólidos solubles. Método refractométrico.* Quito: Instituto Ecuatoriano de Normalización. <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/380.pdf>

- Instituto Ecuatoriano de Normalización. (1985). *NTE- INEN 389. Conservas vegetales. Determinación de la concentración del ion hidrógeno (pH)*. Ecuador: Instituto Ecuatoriano de Normalización. <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/389.pdf>
- Instituto Ecuatoriano de Normalización. (1985). *NTE-INEN 381. Conservas Vegetales. Determinación de acidez titulable. Método potenciométrico dereferencia*. Quito: Instituto Ecuatoriano de Normalización. <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/381.pdf>
- Instituto Ecuatoriano de Normalización. (2008). *Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2 3337*. https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_2337.pdf
- Instituto Ecuatoriano de Normalización. (1985). *NTE- INEN 401. Conservas vegetales. Determinación de cenizas*. Quito: Instituto Ecuatoriano de Normalización. <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/401.pdf>
- López, C., García, M., Martínez, M., & Sánchez, L. (2022). Calidad nutricional y nutracéutica del fruto de tres especies de Annonaceae: guanábana, chirimoya y chincuya. *Nova Scientia*, 14(28), 1-15. <https://doi.org/10.21640/ns.v14i28.2966>
- Marmolejo, D., Gamarra, D., Paitan, E., & Marmolejo, K. (2022). Caracterización morfológica, físicoquímica y de sanidad de una selección de clones multipatrón de guanábana (*Annona muricata* L.). *Agroindustrial Science*, 12(2), 147-155. <http://doi.org/10.17268/agroind.sci.2022.02.03>
- Martínez, N., Landeros, F., Esquivel, E., & Cervantes, J. (2021). Aplicación biotecnológica de la nisina en la conservación de alimentos. *Frontera Biotecnológica*, 21-25. <https://doi.org/ISSN:2448-8461>

- Méndez, G., Granados, C., & Osorio, M. (2016). Caracterización de la pulpa de *Annona Muricata* L. cultivada en el Norte del Departamento de Bolívar-Colombia. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 21(4).
<https://revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/353/228>
- Mendoza, O., Palacios, A., Salinas, H., Sarmiento, K., & Paucar, L. (2022). Guanábana (*Annona muricata* L): Origen, características, cosecha, Postcosecha, actividad antioxidante, actividad antiinflamatoria y beneficios para la salud. *Agroindustrial Science*, 12(1), 123-129. <https://doi.org/10.17268/agroind.sci.2022.01.14>
- Mora, L. (2020). *Perspectiva comercial de la guanábana (Annona muricata L.) como cultivo frutícola no tradicional en el Ecuador. Tesis de Pregrado*. Universidad Técnica de Babahoyo. <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/8026/E-UTB-FACIAG-ING%20AGROP-000078.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Moreira, E., Montesdeoca, R., Mendoza, N., Vera, J., & Piloso, K. (2021). Evaluación de la calidad de una mermelada de piña (*Ananas sativus*) con adición de fibra dietética obtenida de subproductos de frutas. *Axioma*(25), 24-31.
<https://doi.org/10.26621/ra.v1i25.718>
- Moreno, L. (2021). *Plan de negocios para la exportación de guanábana hacia el mercado de Estados Unidos. Tesis de Pregrado*. Universidad Agraria del Ecuador. Obtenido de: <https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/MORENO%20LARRAGA%20L..pdf>.
- Nogales, D. (2018). *Estudio del manejo poscosecha de borojó Borojoa patinoi (Cuatrec). Delprete & C.H. Perss mediante la aplicación de tres métodos de conservación en la zona de Santo Domingo de los Tsáchilas. Tesis de pregrado*. Santo Domingo:

Universidad de las Fuerzas Armadas - ESPE.

<https://doi.org/http://repositorio.espe.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/21000/14239/T-ESPESD-002021.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Ollé, C. (2015). *Desarrollo de matrices biopoliméricas como soporte de los antimicrobianos naturales natamicina y nisina para la conservación de alimentos lácteos. Tesis Doctoral.*

Universidad de Buenos Aires.

https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/download/tesis/tesis_n5659_OlleResa.pdf

Parra, A., Fischer, G., & Camacho, J. (2019). Influencia de las condiciones climáticas de cultivo en la calidad en cosecha y en el comportamiento postcosecha de frutos de Feijoa.

Tecnología en Marcha, 32(86), 86-92. <https://doi.org/10.18845/tm.v32i7.4264>

Peralta, A. (2020). *Composición química de la piña (Ananas comosus) y los subproductos a nivel de campo como materia prima alternativa para la producción animal. Tesis de Pregrado.* Universidad Técnica Estatal de Quevedo.

<https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/5289/1/T-UTEQ-0084.PDF>

Perrazo, C. (2022). *Estudio del efecto de distintas concentraciones de nisina como bioconservante y su aplicación en distintas conservas vegetales (Alimentos de II Gama).*

Tesis de Pregrado. Universidad de las Fuerzas Armadas.

<http://repositorio.espe.edu.ec:8080/bitstream/21000/32382/1/T-ESPESD-003217.pdf>

Ribeiro, R., Santos, M., Azevedo, M., Gutiérrez, M., & Narain, N. (2021). Process optimization for elaboration of cajá-umbu (*Spondias* spp.) fruit jelly: The effect of pulp and pectin contents on sensory attributes and volatile constituents.

International Journal of Gastronomy and Food Science, 24. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2021.100315>

- Rivas, E., Posada, A., Vela, G., & Vargas, M. (2020). Evaluación fisicoquímica y determinación sensorial de frutos descartados de *Mangifera indica* L. variedad Ataulfo en Acapetahua, Chiapas, México. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 21(1).
<https://www.redalyc.org/journal/813/81363356004/81363356004.pdf>
- Rivera, A. (2018). *Desarrollo de una bebida tipo smoothie con el uso de pulpa de naranja (Citrus x sinensis O.) de la variedad Navelina, pulpa de mango (Mangifera indica L.) de la variedad Tommy Atkins y pulpa de remolacha (Beta vulgaris L.) de la variedad Conditiva*. Universidad Católica de Santiago de Guayaquil.
<http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/10182/1/T-UCSG-PRE-TEC-CIA-26.pdf>
- Rivera, V. (2020). *Evaluación de la actividad antioxidante de los carotenoides presentes en tres variedades de cáscara de mango (Mangifera indica L.)*. Tesis de Pregrado. Universidad Central del Ecuador. <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/22049/1/T-UCE-0008-CQU-266.pdf>
- Rodríguez, R. (2022). *Evaluación del proceso de secado por atomización sobre las propiedades funcionales (Capacidad antioxidante y vitamina C) de la guanábana Annona muricata L.* Tesis de Pregrado. Universidad Técnica del Norte.
<http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/13139/2/03%20EIA%20570%20TRAB-AJO%20GRADO.pdf>
- Soni, A., & Brightwell, G. (2022). Effect of Hurdle Approaches Using Conventional and Moderate Thermal Processing Technologies for Microbial Inactivation in Fruit and Vegetable Products. *Foods*, 11(1811), 1-17. <https://doi.org/10.3390/foods11121811>

- Teixeira, A., Cuquetto, H., & Jain, S. (2017). Bacteriocins from lactic acid bacteria and their potential in the preservation of fruit products. *Crit Rev Biotechnol*, 37(7), 852-864.
<https://doi.org/10.1080/07388551.2016.1262323>.
- Tiscama, K. (2021). *Plan de negocios para la implementación de una planta procesadora de néctar de guanábana en la provincia de Los Ríos. Tesis de Pregrados*. Universidad Técnica de Ambato.
<https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/32596/1/AL%20780.pdf>
- Ueda, J., Pedrosa, M., Heleno, S., Carocho, M., Ferreira, I., & Barros, L. (2022). Food Additives from Fruit and Vegetable By-Products and Bio-Residues: A Comprehensive Review Focused on Sustainability. *Sustentability*, 14(9), 1-18.
<https://doi.org/10.3390/su14095212>
- Valladolid, A. (2018). *Optimización de parámetros para la obtención de néctar a partir de guanábana (Anona muricata L), con fines de aceptación, por metodología de superficie de respuesta. Tesis de pregrado*. Universidad Nacional de Piura.
<https://repositorio.unp.edu.pe/bitstream/handle/UNP/1390/IND-VAL-PUR-2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Vera, W. (2021). *Análisis físico químico del mango. Tesis de pregrado*. Universidad Técnica de Machala. http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/16993/1/E-12173_VERA%20MORA%20WINER%20FABIAN.pdf
- Wang, Y., Wu, J., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., . . . Geng, W. (2021). Metabolism Characteristics of Lactic Acid Bacteria and the Expanding Applications in Food Industry.

Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 9(612285), 1-19.

<https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.612285>

Zapásnik, A., Sokołowska, B., & Bryła, M. (2022). Role of lactic acid in food preservation and safety. *Foods*, 11(1283), 1-17. <https://doi.org/10.3390/foods11091283>