



**ESPE**  
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS  
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA



**Aislamiento y caracterización de bacterias ácido lácticas en el mosto de piña, considerando dos variedades: (*Golden Sweet* y *Ananas comosus*), para la bioconservación de distintos vegetales frescos.**

**Autora:** Cordovilla Yaguargo, Erika Sofia

**Directora:** Sánchez Llaguno, Sungey Naynee, PhD.

Santo Domingo

2022



**ESPE**  
ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO  
CAMINO A LA EXCELENCIA

# INTRODUCCIÓN

Exportación  
alrededor de 20  
tipos de frutas.



Productos de  
calidad.



Métodos de  
conservación se  
utilizan para evitar  
que los alimentos  
sufran el ataque de  
agentes patógenos.

Alargar la  
vida útil

Mejora la  
calidad  
microbiológica.

La utilización de las  
BAL en los alimentos  
contribuye al  
desarrollo de las  
propiedades  
organolépticas y  
reológicas.



Ambientes poco  
favorables para el  
desarrollo de  
microorganismos.



# OBJETIVOS

## OBJETIVO GENERAL



Aislamiento y caracterización de bacterias ácido lácticas en el mosto de piña, considerando dos variedades: (Golden Sweet y *Ananas comosus*), para la bioconservación de distintos vegetales frescos.



## OBJETIVOS ESPECÍFICOS



Aislar y caracterizar bacterias ácido lácticas presentes en el mosto de piña (*Ananas comosus*), considerando dos variedades: (Golden Sweet y Hawaiana).

Evaluar el efecto de la aplicación de las bacterias ácido lácticas para la bioconservación de distintos vegetales frescos (I Gama): Tomate riñón (*Solanum lycopersicum*) y guineo (*Musa x paradisiaca* AA).

Determinar mediante análisis fisicoquímicos y microbiológicos la influencia del bioconservante aplicado en los distintos vegetales frescos (I Gama): Tomate riñón (*Solanum lycopersicum*) y guineo (*Musa x paradisiaca* AA).



# HIPÓTESIS

**FACTOR A**



**Ho:** La obtención de bacterias ácido lácticas presentes en la fermentación de mosto de piña no influye como bioconservante protector.

**Ha:** La obtención de bacterias ácido lácticas presentes en la fermentación de mosto de piña influye como bioconservante protector.

**FACTOR B**



**Ho:** La bioconservación con bacterias ácido lácticas no influye en el tipo de fruta.

**Ha:** La bioconservación con bacterias ácido lácticas influye en el tipo de fruta.

**FACTOR C**



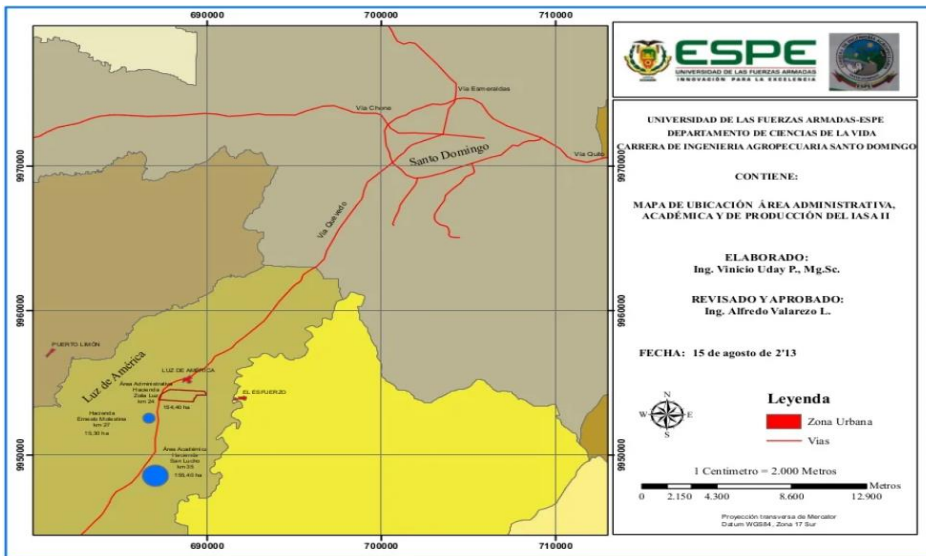
**Ho:** Las propiedades físico-químicas de las frutas no varían con el tipo de acondicionamiento utilizado para la bioconservación.

**Ha:** Las propiedades físico-químicas de las frutas varían con el tipo de acondicionamiento utilizado para la bioconservación.



# METODOLOGÍA

## UBICACIÓN GEOGRÁFICA



(Uday, 2014)

## UBICACIÓN ECOLÓGICA



- Zona de vida: Bosque húmedo tropical
- Altitud: 224 msnm
- Temperatura media: 24.6 °C
- Precipitación: 2860 mm/año
- Humedad relativa: 85%
- Heliofanía: 680 horas luz/año
- Suelo: Franco Arenoso

FUENTE: Estación Metereológica Puerto Ila Vía Quevedo Km 34



**ESPE**  
ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO  
CAMINO A LA EXCELENCIA

## DISEÑO EXPERIMENTAL

### Factores y niveles de estudio

Factores	Simbología	Niveles
Variedad de mosto de piña (A)	a0	<i>Lactobacillus brevis</i> (Golden sweet)
	a1	<i>Lactobacillus plantarum</i> (Hawaiiana)
Fruta (B)	b0	Tomate
	b1	Guineo
Acondicionamiento (C)	c0	Refrigeración
	c1	Sin refrigeración

# METODOLOGÍA

## Tratamientos

N°	Tratamientos	Combinaciones
T1	a1b1c1	<i>Lactobacillus brevis</i> (G. S.) + Tomate + Refrigeración
T2	a1b1c2	<i>Lactobacillus brevis</i> (G. S.) + Tomate + Sin Refrigeración
T3	a1b2c1	<i>Lactobacillus brevis</i> (G. S.) + Guineo + Refrigeración
T4	a1b2c2	<i>Lactobacillus brevis</i> (G. S.) + Guineo + Sin Refrigeración
T5	a2b1c1	<i>Lactobacillus plantarum</i> (H.) + Tomate + Refrigeración
T6	a2b1c2	<i>Lactobacillus plantarum</i> (H.) + Tomate + Sin Refrigeración
T7	a2b2c1	<i>Lactobacillus plantarum</i> (H.) + Guineo + Refrigeración
T8	a2b2c2	<i>Lactobacillus plantarum</i> (H.) + Guineo + Sin Refrigeración

## Tipo de diseño

Modelo trifactorial (2x2x2),  
conducido en un diseño  
DBCA

## Repeticiones

Tres repeticiones por cada  
tratamiento

## U.E

24 unidades  
experimentales

## Análisis funcional

Prueba de significancia de  
Tukey ( $p < 0,05$ ),



# METODOLOGÍA

## Fermentación del mosto de piña



Recepción y lavado de las piñas



Extracción del mosto

Método del globo



Fermentación durante 72 horas



Golden sweet



Hawaiiana





# METODOLOGÍA

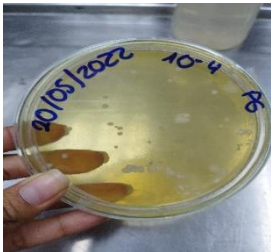
## Aislamiento de Bacterias Ácido Lácticas

Diluciones  $10^{-6}$   
en agua peptona

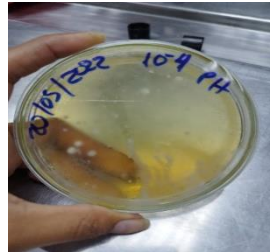


Siembra

Agar MRS – 37°C – 48 hrs

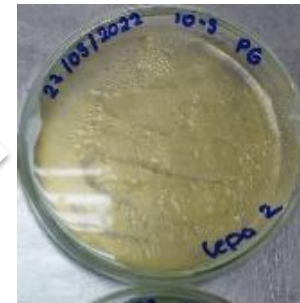


Golden  
sweet



Hawaiana

Golden  
sweet



## Aislamiento

Hawaiana



# METODOLOGÍA

## Tinción Gram



## Prueba de catalasa



## Secuenciación



Molecular Evolutionary  
Genetics Analysis



**ESPE**  
ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO  
CAMINO A LA EXCELENCIA

# METODOLOGÍA

## Solución Bacteriana

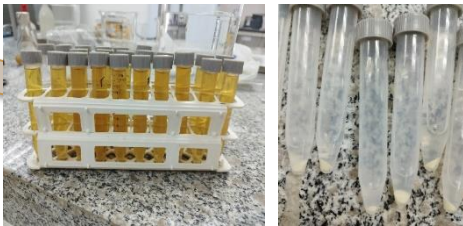
Caldo MRS  
24 hrs – 37°C



Centrifugación a 1000  
rpm - 15 min



buffer de ácido cítrico-  
citrato de sodio (pH  
3,8)



Preparación de  
solución



## Bioconservación

Lavado y desinfección  
de las frutas



Conservación durante 10  
días en acondicionamiento  
a temperatura ambiente y  
en refrigeración.



# VARIABLES DE ESTUDIO

**pH**

Norma INEN 389



**Acidez titulable**

Norma INEN 381

Hidróxido de Na al 0,1 N



**Sólidos solubles**  
Brix

Refractómetro



**Pérdida de peso**

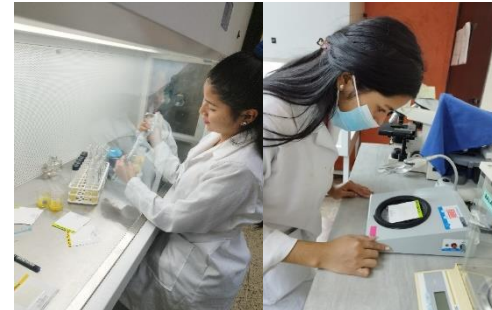
$$= \frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso final}}{\text{Peso final}} * 100$$



**Recuento de poblaciones microbianas**

Petrifilm

Agua peptona



**ESPE**  
ESCUOLA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO  
CAMINO A LA EXCELENCIA

# RESULTADOS Y DISCUSIONES

## Caracterización físico-química del mosto de piña

Parámetro	Unidad	Fresco		Fermentado	
		Golden sweet	Hawaiana	Golden sweet	Hawaiana
pH		3,97	3,73	3,75	3,73
Sólidos solubles	°Brix	16	14	7	6
Acidez titulable	%	0,56	0,61	0,83	0,89
Densidad relativa	g/cm <sup>3</sup>	1,065	1,055	1,010	1,000

Piña Golden sweet 3,84 y piña Hawaiana 3,50 respectivamente (Martínez, 2015).

Obtuvo cantidades de 13,5 y 10,6°Brix respectivamente (Martínez, 2015).

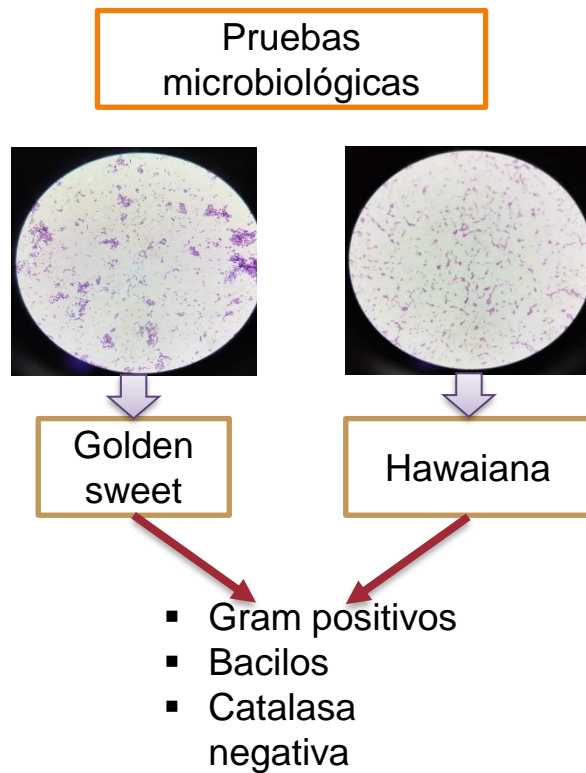
Resultados de 0,53% para la variedad Golden sweet y 0,87 para la variedad Hawaiana (Martínez, 2015).

A medida que aumentan los °Brix, la densidad relativa también va a aumentar (Panchi, 2013).

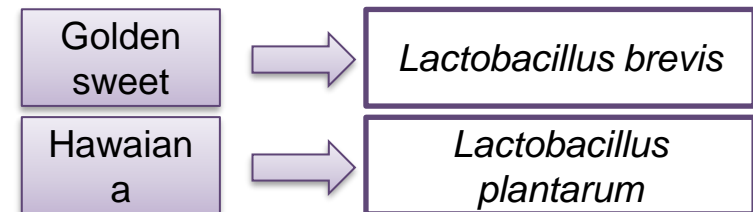


# RESULTADOS Y DISCUSIONES

## Identificación de las bacterias ácido lácticas



## Secuenciación



Similitud a *Lactobacillus pentosus*

Presentes en la secreción de diversas sustancias de carácter antimicrobiano.

(Pedraza & Arenal, 2017).

Tepache de piña

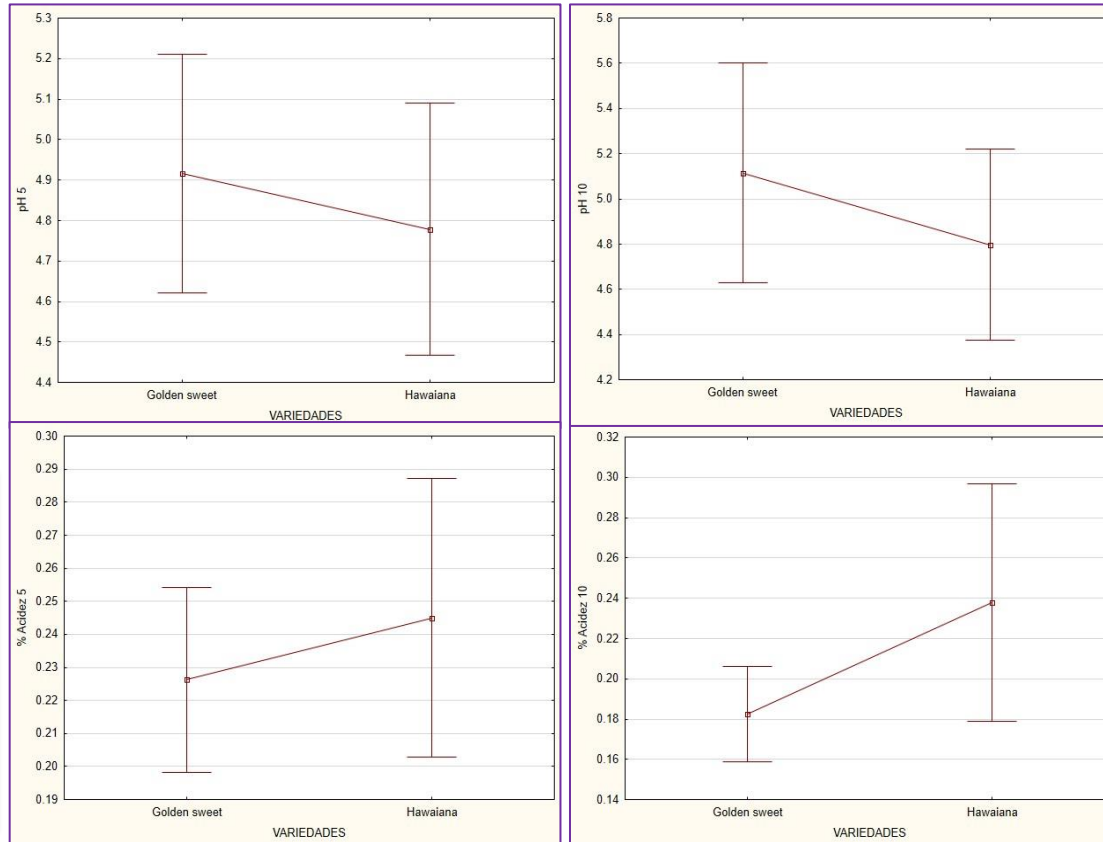
(Ramírez, 2020).



# RESULTADOS Y DISCUSIONES

FACTOR A

## pH y Acidez



Al disminuir el valor de pH de un producto, favorece el periodo de conservación (Hanna, 2014).

La acidificación constituye, pues, una manera de conservación de los alimentos que controla la proliferación de bacterias y mantienen la calidad del alimento (Chavarrías, 2013).



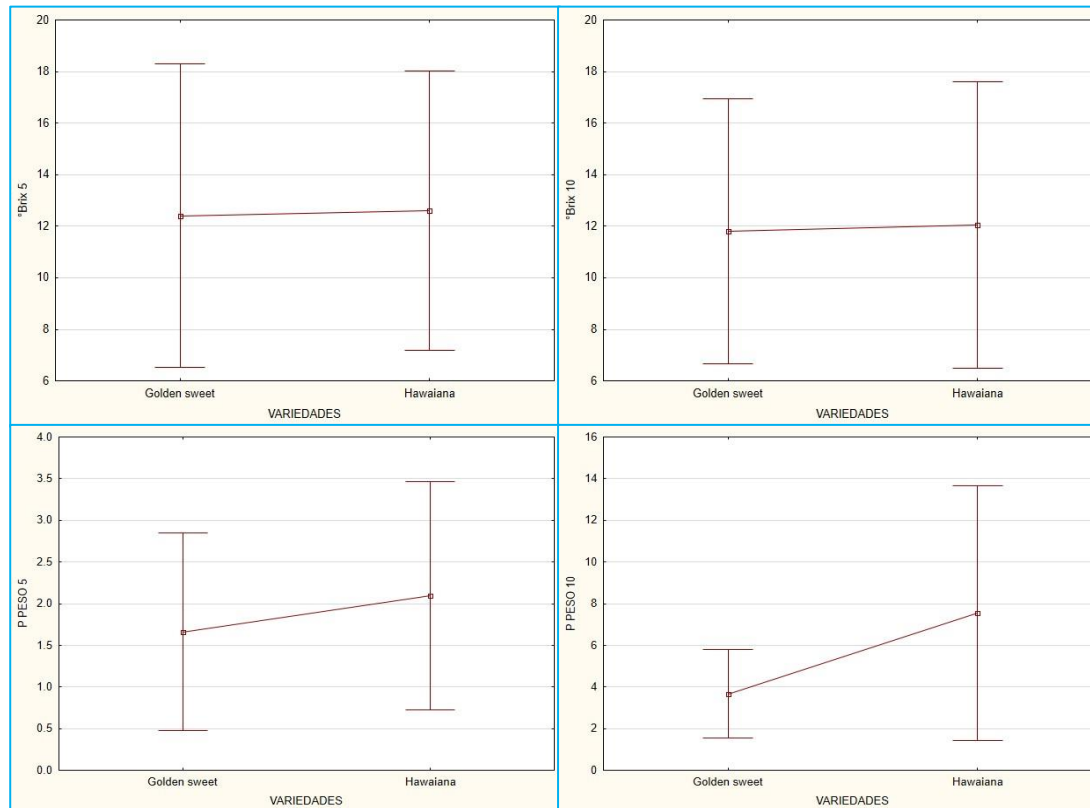
**ESPE**  
ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO  
CAMINO A LA EXCELENCIA

# RESULTADOS Y DISCUSIONES

FACTOR A

## Grados brix y pérdida de peso

Aumento de producción de sacarosa (Arvensis, 2014).



Característica de la cinética de deshidratación de la fruta (Fernández, 2013).

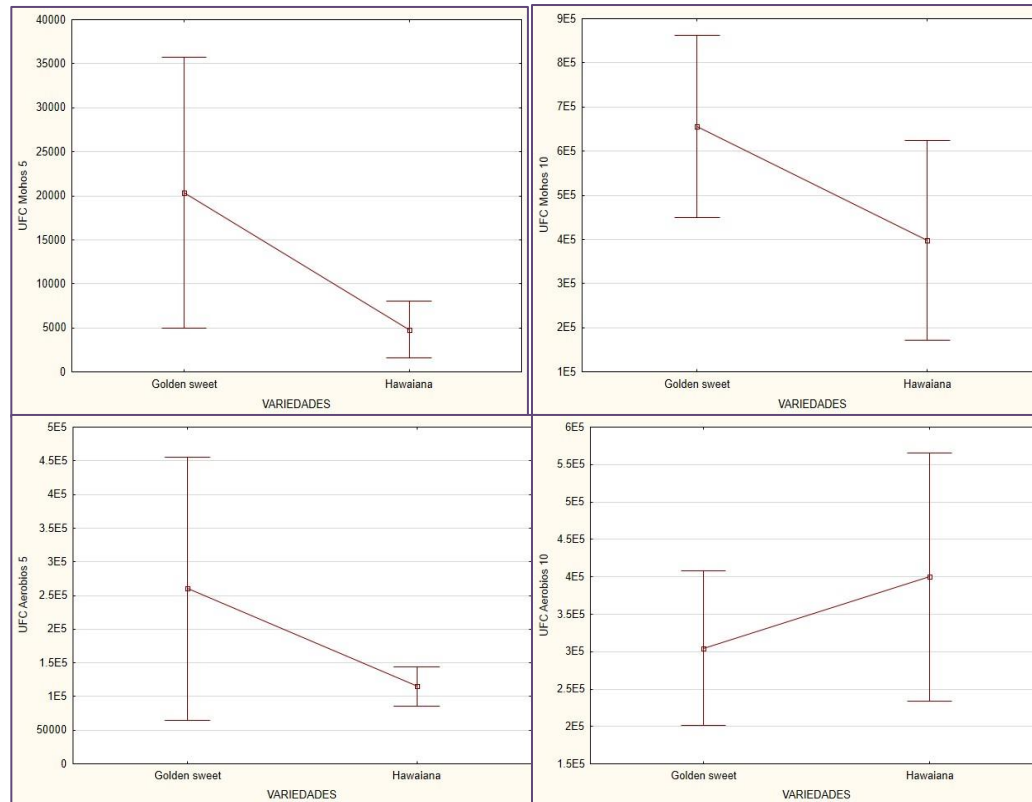




# RESULTADOS Y DISCUSIONES

FACTOR A

## Variables microbiológicas



El contenido de humedad permite ya sea que la fruta tenga mejor apariencia o que se promueva la formación de mohos u otras características poco deseables (HVACR, 2022).

Las bacterias *Lactobacillus*, tienen la capacidad de colonizar primero el fruto, asegurando una alta capacidad antagonista contra hongos patógenos (López, 2021).



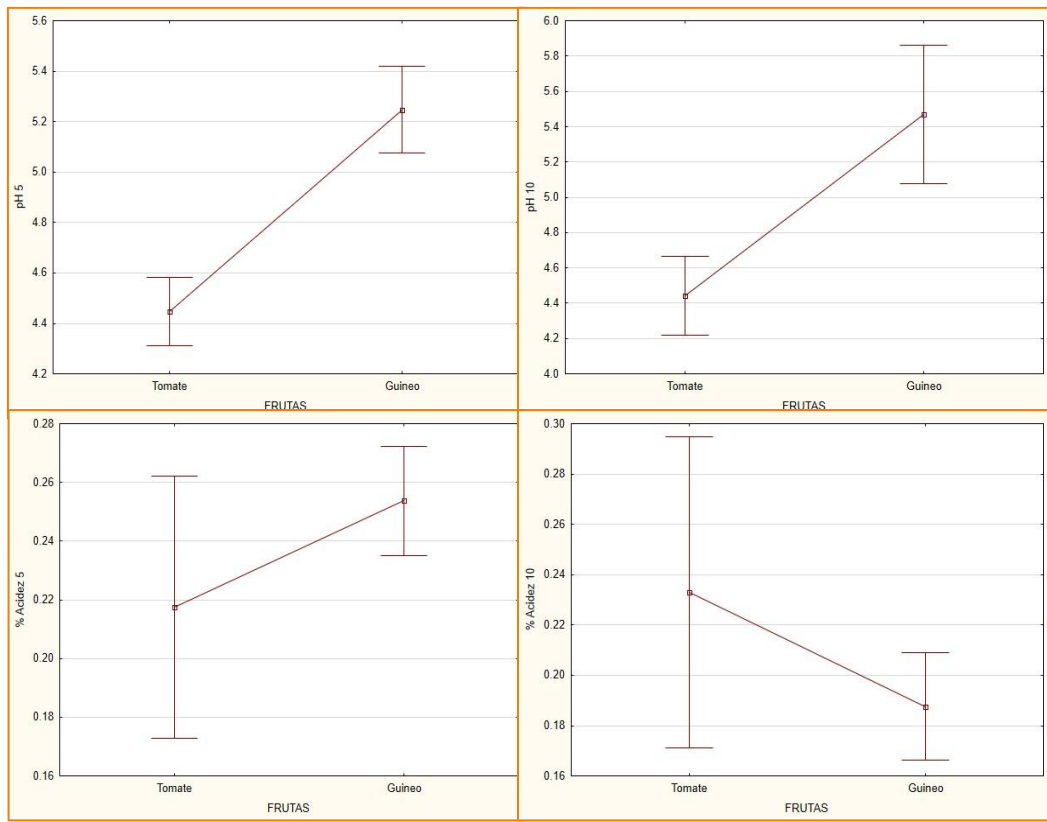
# RESULTADOS Y DISCUSIONES

FACTOR B

## pH y Acidez

El pH del tomate se sitúa normalmente entre 4,2 y 4,4; lo que asegura la estabilidad microbiológica durante el procesado en la elaboración de conservas (García y otros, 2009) .

Los plátanos y bananas tienen significativamente niveles de acidez bajos, normalmente entre 0.1 y 0.3% (ATAGO, s.f.).



La disminución del pH y aumento de la acidez titulable en el plátano, está relacionado con la degradación de almidón en azúcares reductores o su conversión en ácido pirúvico (Azcón-Bieto y Talón 2009).

El nivel de acidez en tomates suele encontrarse entre 0,3 a 0,8 % (ATAGO, s.f.).

El pH de una fruta se eleva cuando madura (Decco, 2018).



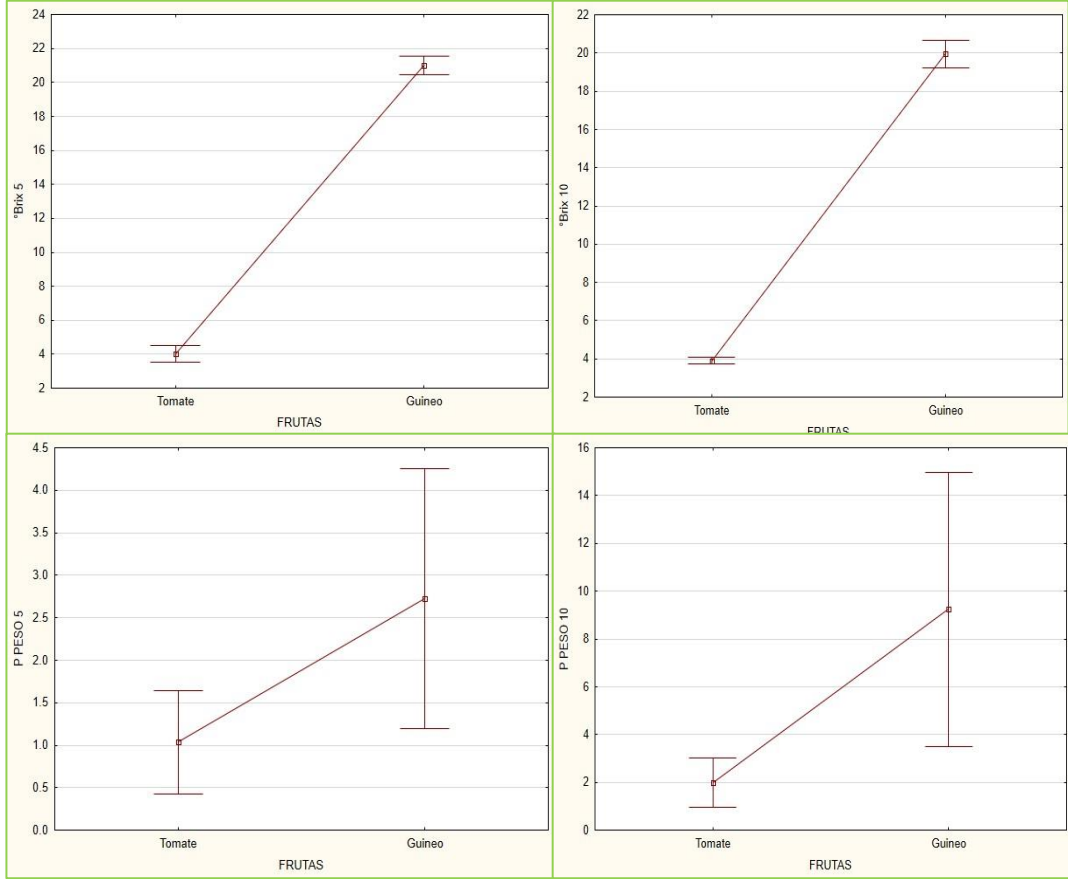
# RESULTADOS Y DISCUSIONES

FACTOR B

## Grados brix y pérdida de peso

La mayor parte de variedades de tomate contienen entre 4,5 y 5,5°Brix (García y otros, 2009).

El contenido de sólidos solubles varía entre los cultivares y entre los grados de madurez (Millán & Ciro, 2011).



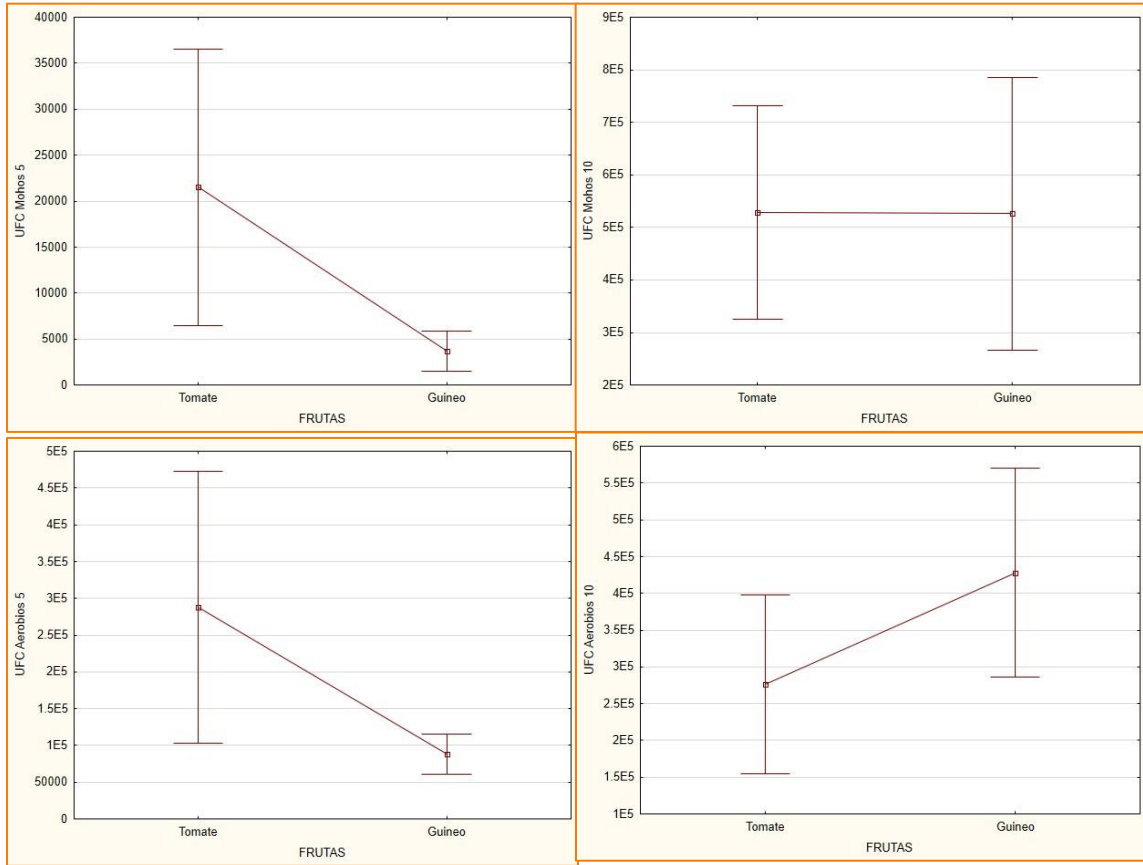
Pérdida de peso por evaporación o por deshidratación de las frutas (Millán & Ciro, 2011).

# RESULTADOS Y DISCUSIONES

FACTOR B

## Variables microbiológicas

Esos factores pueden estar relacionados con las características del alimento (extrínsecos) (OPS & OMS, s.f.).

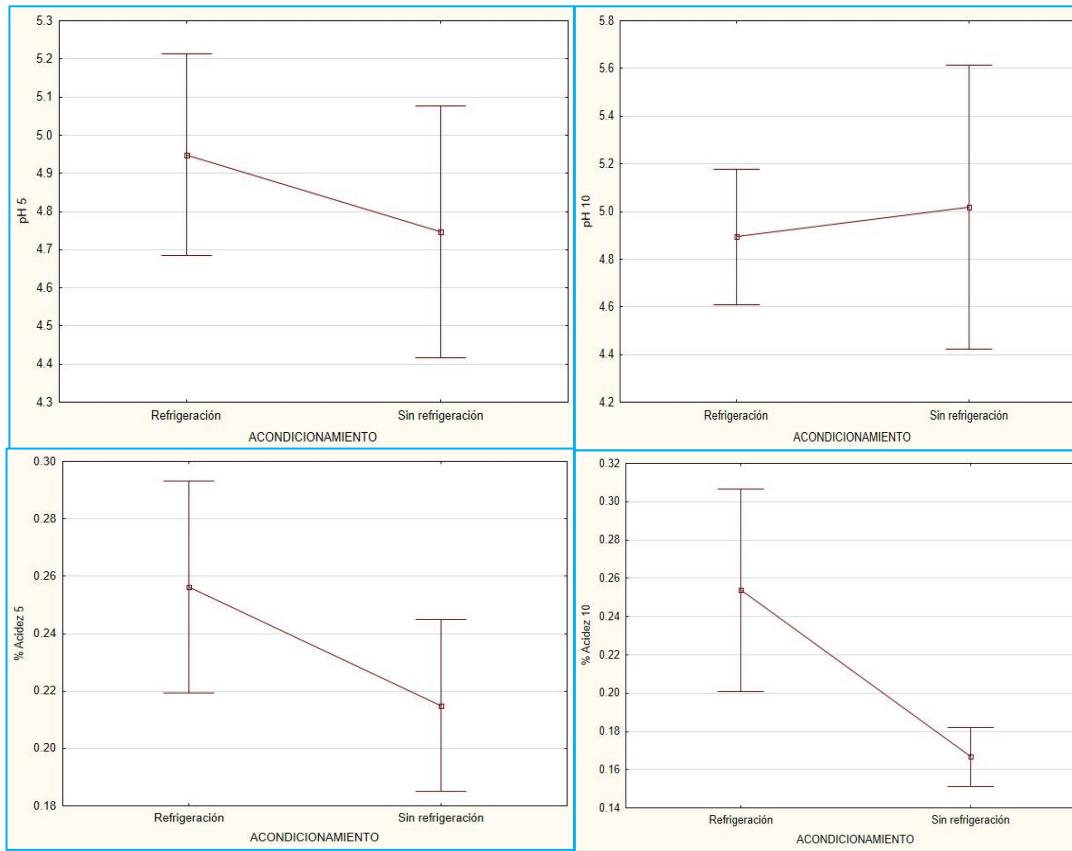


Con el ambiente en el cual dicho alimento se encuentra (extrínsecos) (OPS & OMS, s.f.).

# RESULTADOS Y DISCUSIONES

FACTOR C

## pH y acidez



Cuando la temperatura se encuentra por encima de los 25°C se reduce el pH y en aquellos casos en que las soluciones están por debajo de los 25°C se eleva el pH (Crisol,2019).

La acidez titulable disminuye en algunas frutas debido al efecto amortiguador del ácido cítrico (Torres y otros, 2013) .

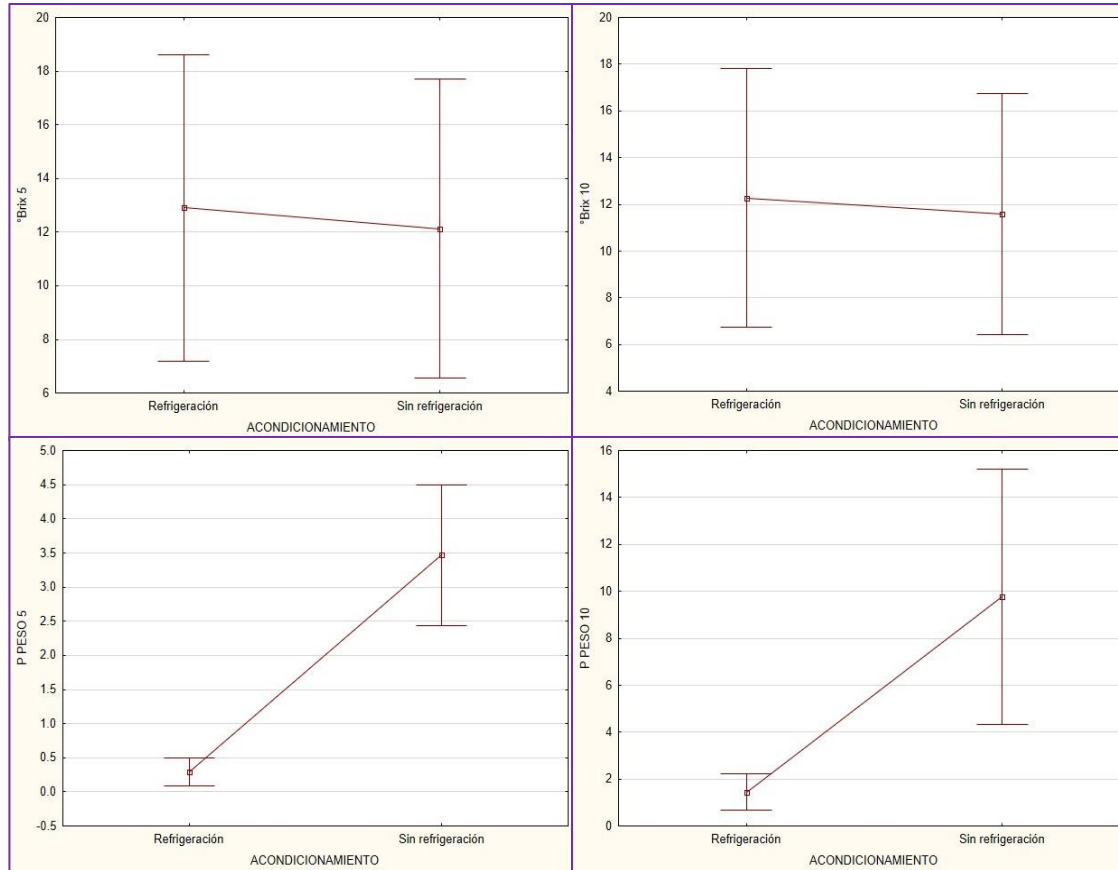


# RESULTADOS Y DISCUSIONES

FACTOR C

## Grados brix y pérdida de peso

Mientras el tiempo de conservación sea mayor, la pérdida de sólidos solubles también será mayor (Carranza y otros, 2012).



Estas pérdidas ocurren por el intercambio de masa entre el producto y el medio que lo rodea. Relación entre el producto y el ambiente a una temperatura dada (Quirós, 2016).

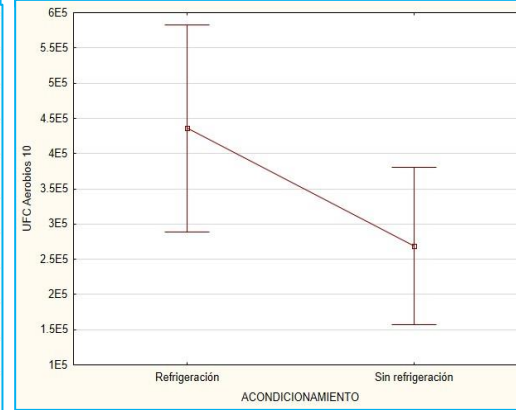
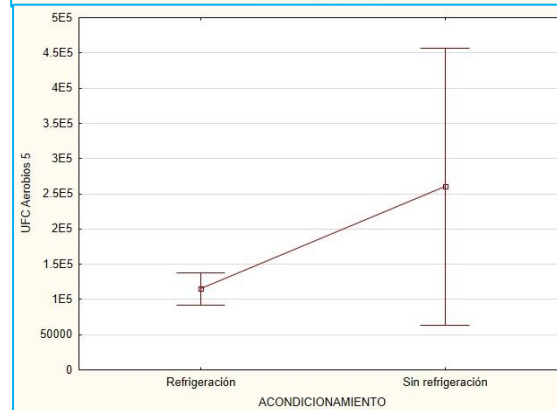
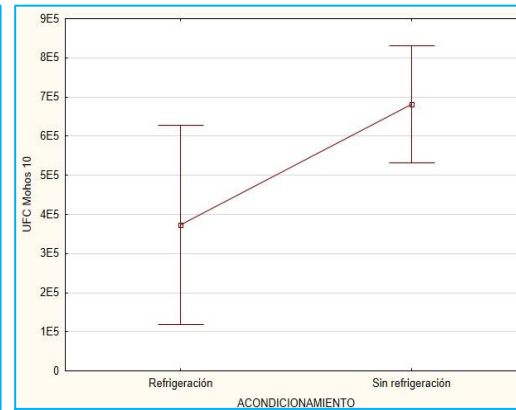
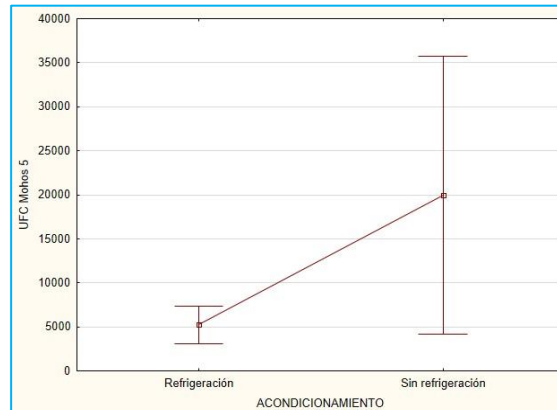


# RESULTADOS Y DISCUSIONES

FACTOR C

## Variables microbiológicas

Cuando las bacterias cuentan con nutrientes (comida), humedad y temperaturas favorables; crecen con rapidez aumentando su número (Blogia, 2011).



# RESULTADOS Y DISCUSIONES

INTERACCIÓN  
A\*B\*C

	pH 5	pH 10	Acidez 5	Acidez 10
A0B0C0	4.65 a	4.70 abc	0.190 ab	0.205 ab
A0B0C1	4.36 a	4.52 ab	0.190 ab	0.165 ab
A0B1C0	5.38 a	4.95 abc	0.280 cd	0.215 b
A0B1C1	5.28 a	6.29 d	0.245 bc	0.145 a
A1B0C0	4.47 a	4.45 ab	0.330 d	0.390 c
A1B0C1	4.30 a	4.10 a	0.160 a	0.171 ab
A1B1C0	5.29 a	5.48 cd	0.225 bc	0.205 ab
A1B1C1	5.05 a	5.15 bc	0.265 c	0.185 ab
	Brix 5	Brix 10	P peso 5	P peso 10
A0B0C0	3.50 a	4.15 b	0.19 b	0.49 a
A0B0C1	3.70 a	4.10 b	1.83 d	4.05 e
A0B1C0	22.20 c	20.80 d	0.11 a	1.40 b
A0B1C1	20.25 b	18.15 c	4.52 f	8.74 f
A1B0C0	5.15 a	3.75 ab	0.06 a	0.52 a
A1B0C1	3.75 a	3.60 a	2.07 e	2.88 c
A1B1C0	20.75 c	20.40 d	0.82 c	3.39 d
A1B1C1	20.80 c	20.45 d	5.45 g	23.41 g

	Mohos 5	Mohos 10	Aerobios 5	Aerobios 10
A0B0C0	7500.00 c	1012500 d	139000.0 b	375000.0 d
A0B0C1	60500.00 e	516500 c	767500.0 c	68000.0 a
A0B1C0	8000.00 c	244000 ab	75500.0 a	484000.0 e
A0B1C1	5500.00 b	852500 d	59500.0 a	292000.0 c
A1B0C0	5500.00 b	175500 a	88000.0 a	137000.0 ab
A1B0C1	12500.00 d	408500 bc	156000.0 b	525000.0 e
A1B1C0	0.00 a	59500 a	158000.0b	748000.0 f
A1B1C1	1250.00 a	947500 d	58000.0 a	189000.0 b



**ESPE**  
ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO  
CAMINO A LA EXCELENCIA

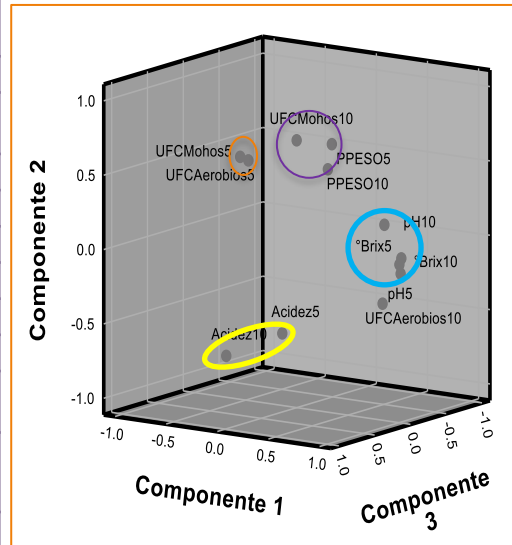


# RESULTADOS Y DISCUSIONES

INTERACCIÓN  
A\*B\*C

Matriz de correlaciones

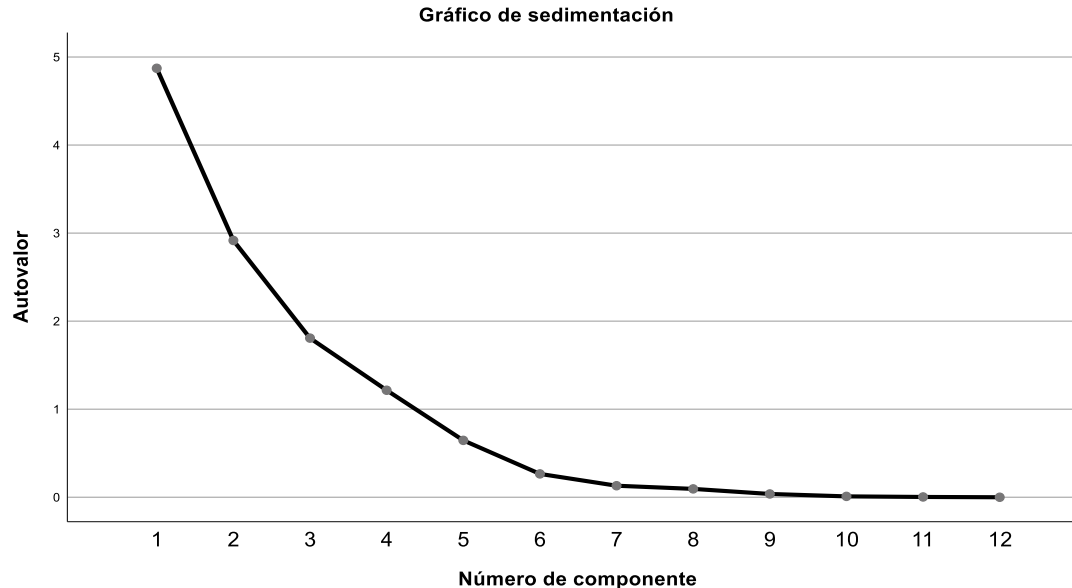
	% Acidez 5	% Acidez 10	pH 5	pH 10	°Brix 5	°Brix 10	P PESO 5	P PESO 10	UFC Mohos 5	UFC Mohos 10	UFC Aerobios 5	UFC Aerobios 10
% Acidez 5	1.000	.644	.324	.139	.389	.334	-.051	.134	-.378	-.264	-.423	-.263
% Acidez 10	.644	1.000	-.241	-.327	-.251	-.291	-.516	-.326	-.242	-.447	-.245	-.203
pH 5	.324	-.241	1.000	.771	.873	.860	.194	.259	-.486	-.037	-.457	.391
pH 10	.139	-.327	.771	1.000	.697	.685	.450	.334	-.329	.256	-.299	.126
°Brix 5	.389	-.251	.873	.697	1.000	.995	.389	.479	-.493	-.057	-.465	.352
°Brix 10	.334	-.291	.860	.685	.995	1.000	.391	.500	-.474	-.029	-.433	.372
P PESO 5	-.051	-.516	.194	.450	.389	.391	1.000	.890	-.066	.579	-.100	-.300
P PESO 10	.134	-.326	.259	.334	.479	.500	.890	1.000	-.178	.515	-.174	-.292
UFC Mohos 5	-.378	-.242	-.486	-.329	-.493	-.474	-.066	-.178	1.000	-.005	.972	-.493
UFC Mohos 10	-.264	-.447	-.037	.256	-.057	-.029	.579	.515	-.005	1.000	-.065	-.417
UFC Aerobios 5	-.423	-.245	-.457	-.299	-.465	-.433	-.100	-.174	.972	-.065	1.000	-.389
UFC Aerobios 10	-.263	-.203	.391	.126	.352	.372	-.300	-.292	-.493	-.417	-.389	1.000



**ESPE**  
ESCUOLA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO  
CAMINO A LA EXCELENCIA

# RESULTADOS Y DISCUSIONES

INTERACCIÓN  
A\*B\*C



1. Acidez día 5: 40,60%
2. Acidez día 10: 24,31%
3. pH día 5: 15,06%

El pH es un factor intrínseco de los alimentos que afecta a su deterioro, y por lo tanto a su vida útil, el nivel de acidez de un alimento es crucial a la hora de someterlo a un tratamiento para conservarlo más tiempo.

(Aconsa, 2021).



**ESPE**  
ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO  
CAMINO A LA EXCELENCIA

# CONCLUSIONES

La variedad Golden sweet con *Lactobacillus brevis* presentó menor acidez, menor pérdida de peso y un mayor contenido de sólidos solubles en comparación a la variedad Hawaiana, es decir, que las variedades utilizadas para el aislamiento de bacterias ácido lácticas si influyen en la bioconservación de las frutas, al tener características físico-químicas diferentes.

La bioconservación del tomate presentó mejores características con respecto a los días de bioconservación en las variables físico-químicas, ya que hasta el día 10 el pH se mantuvo con el pasar de los días de conservación en 4,4 el contenido de sólidos solubles redujo mínimamente de 4,02 a 3,9 y la pérdida de peso fue menor que la del guineo. Es decir, que en la bioconservación con bacterias ácido lácticas si influye el tipo de fruta ya que presentan diferentes características físico-químicas y microbiológicas

La bioconservación en refrigeración con bacterias ácido lácticas tiene menor influencia en las características físico-químicas, ya que no se producen cambios extremos, permitiendo así alargar la vida útil de los alimentos de I Gama en los que son aplicados, en comparación a la bioconservación sin refrigeración, en la cual se produce la mayor pérdida de peso de las frutas con el pasar de los días.



# RECOMENDACIONES

Realizar el aislamiento de bacterias ácido lácticas (BAL) provenientes de la variedad de piña Golden sweet para la bioconservación de alimentos de I Gama, ya que presenta mejores resultados.

Utilizar la solución bacteriana en el tomate (*Solanum lycopersicum*), ya que presentó mejores resultados en cuanto a las características físico-químicas y microbiológicas. Presentando mejor inhibición de mohos y aerobios.

Emplear la bioconservación en refrigeración, ya que es la más apta y recomendada para alargar la vida útil de las frutas frescas.



**GRACIAS POR SU  
ATENCIÓN**



**ESPE**  
ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO  
CAMINO A LA EXCELENCIA