



**Aislamiento y caracterización de bacterias ácido lácticas en el mosto de dos tipos de tuna,
amarilla y roja, para la bioconservación de tomate (*Solanum lycopersicum*): Riñón, cherry
redondo y cherry pera**

Otero Garcia, Josselyn Viviana

Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Trabajo de Integración Curricular, previo a la obtención del título de Ingeniería en Biotecnología

PhD. Sánchez Llaguno, Sungey Naynee

26 de agosto del 2022

REPORTE DE VERIFICACIÓN DE CONTENIDO

COPYLEAKS

OTERO JOSSELYN - Documento Integración Curricular.pdf

Scanned on: 15:49 August 26, 2022 UTC



Identical Words	259
Words with Minor Changes	0
Paraphrased Words	54
Deleted Words	3051

COPYLEAKS Writer | Education | Business

COPYLEAKS

Firma



otero-joselyn@university.edu
SUNGEY NAYNEE
SANCHEZ LLAGUNO

Sánchez Llaguno, Sungey Naynee, PhD.

C.C.: 1205348673

Directora del proyecto de investigación



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA

CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

CERTIFICACIÓN

Certifico que el trabajo de integración curricular, **“Aislamiento y caracterización de bacterias ácido lácticas en el mosto de dos tipos de tuna, amarilla y roja, para la bioconservación de tomate (*Solanum lycopersicum*): Riñón, cherry redondo y cherry pera”**, fue realizado por la señorita **Otero Garcia, Josselyn Viviana** 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, 26 de agosto del 2022

Firma:



Sánchez Llaguno, Sungey Naynee, PhD.

C.C.: 1205348673

Directora del proyecto de investigación



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA

CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

RESPONSABILIDAD DE AUTORÍA

Yo, **Otero García, Josselyn Viviana**, con cédula de ciudadanía n° 2300399389, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: **"Aislamiento y caracterización de bacterias ácido lácticas en el mosto de dos tipos de tuna, amarilla y roja, para la bioconservación de tomate (*Solanum lycopersicum*): Riñón, cherry redondo y cherry pera**, 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 citas bibliográficas.

Santo Domingo de los Tsáchilas, 26 de agosto del 2022

Firma

Otero García, Josselyn Viviana

C.C.: 2300399389



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA

CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN

Yo, **Otero García, Josselyn Viviana**, con cédula de ciudadanía n° 2300399389, autorizó a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de integración curricular: **Aislamiento y caracterización de bacterias ácido lácticas en el mosto de dos tipos de tuna, amarilla y roja, para la bioconservación de tomate (*Solanum lycopersicum*): Riñon, cherry redondo y cherry pera**, en el repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Santo Domingo de los Tsáchilas, 26 de agosto del 2022

Firma

Otero García, Josselyn Viviana

C.C.: 2300399389

Dedicatoria

Dedico este trabajo a mi amada madre y mi querido padre, sin su constante e incondicional apoyo, nada de esto sería posible.

Agradecimientos

Primero, me gustaría agradecer a Dios por guiar cada uno de mis días, darme salud y permitirme cumplir mis objetivos.

A mis padres, gracias por todos sus esfuerzos, por ser mi apoyo e incentivo para mejorar cada día. A mi hermana, gracias por sacarme de mi zona de confort y aventurarme a nuevas experiencias.

A las autoridades de la Universidad de las fuerzas armadas "ESPE", por su indispensable contribución en el desarrollo de esta etapa académica.

A mi tutora, PhD. Sungey Sánchez, muchas gracias por toda su ayuda y paciencia durante la realización de este proyecto. De igual forma, al PhD. Juan Neira, gracias por su apoyo y la asesoría prestada para mejorar la presentación de ese trabajo.

A los amigos que la experiencia universitaria me ha otorgado Jessi, Briggith, Kelly, Stefy, Harrison y Brandon.

A mis compañeros de integración curricular, gracias por su ayuda en los laboratorios Nathaly, Jairo, Jean Pierre, Diana y Karol.

Índice de contenidos

Carátula	1
Reporte de verificación de contenido	2
Certificación	3
Responsabilidad de autoría	4
Autorización de publicación	5
Dedicatoria	6
Agradecimientos	7
Índice de contenidos	8
Índice de tablas	13
Índice de figuras	15
Resumen	16
Abstract	17
Capítulo I	18
Introducción	18
Objetivos	20
Objetivo general	20
Objetivos específicos	20
Hipótesis	21
Hipótesis nula	21
Hipótesis alternativa	21

Capítulo II	22
Revisión de la literatura	22
Tuna (<i>Opuntia ficus indica</i>).....	22
Origen y Distribución.....	22
Clasificación taxonómica de la tuna	22
Cultivo y características.....	23
Composición físico-química de la tuna	23
Variedades de tuna	24
Mosto de tuna.....	24
Fermentación	25
Fermentación discontinua.....	25
Bacterias ácido lácticas (BAL)	26
Definición y características.....	26
Clasificación de las BAL.....	27
Importancia de las BAL en la industria alimentaria	27
Actividad antimicrobiana	28
Bioconservación	29
Tomate	29
Generalidades	29
Taxonomía.....	30

	10
Variedades y tipos de tomate.....	30
Manejo postcosecha del tomate	31
Capítulo III.....	32
Metodología.....	32
Ubicación del área de investigación	32
Ubicación política	32
Ubicación geográfica	32
Ubicación ecológica.....	32
Materiales	33
Fermentación del mosto de tuna	33
Aislamiento de bacterias ácido lácticas	33
Identificación microbiana	34
Solución bacteriana	34
Bioconservación de tomates	35
Métodos	36
Obtención de la materia prima	36
Fermentación del mosto de tuna	36
Aislamiento de bacterias ácido lácticas	37
Identificación microbiana	38
Solución bacteriana	40

	11
Bioconservación de tomates	41
Variables físicas, químicas y microbiológicas analizadas	41
Diseño Experimental	44
Tipo de diseño	44
Modelo matemático	44
Factores, niveles y tratamientos	44
Análisis estadístico	45
Capítulo IV.....	46
Resultados.....	46
Caracterización fisicoquímica y microbiológica del mosto de tuna fresco y fermentado	46
Rendimiento de mostos extraídos a partir de dos tipos de tuna.....	48
Balance de materia.....	48
Rendimiento del mosto de tuna	49
Identificación microbiana de las BAL aisladas en los mostos de tuna fermentados	50
Resultados de la identificación microscópica y bioquímica.....	50
Resultados moleculares de la identificación microbiana.....	51
Resultados estadísticos	52
Análisis de varianza	52
Pruebas de significancia Tukey para las variables fisicoquímicas analizadas.....	57
Análisis de componentes principales	68

	12
Análisis de conglomerados	69
Resultados microbiológicos.....	70
Capítulo V.....	71
Discusión	71
Rendimiento del mosto de tuna.....	71
Características fisicoquímicas del mosto de tuna.....	71
Características microbiológicas del mosto de tuna	73
Identificación microbiana de las bacterias aisladas en los mostos fermentados de tuna	74
Bioconservación de las variedades de tomate	75
Capítulo VI.....	79
Conclusiones	79
Recomendaciones	81
Capítulo VII.....	82
Bibliografía	82

Índice de tablas

Tabla 1 <i>Taxonomía de la tuna <i>Opuntia ficus indica</i></i>	22
Tabla 2 <i>Clasificación de las bacterias ácido lácticas por criterios físicos y bioquímicos</i>	27
Tabla 3 <i>Taxonomía del tomate <i>Solanum lycopersicum</i></i>	30
Tabla 4 <i>Recursos utilizados para la fermentación de tunas</i>	33
Tabla 5 <i>Recursos utilizados para el aislamiento de BAL a partir de mostos fermentados de tuna</i>	33
Tabla 6 <i>Recursos utilizados para la identificación microbiana de las bacterias aisladas</i>	34
Tabla 7 <i>Recursos utilizados para la preparación de soluciones bacterianas</i>	34
Tabla 8 <i>Recursos utilizados en la bioconservación de tomates</i>	35
Tabla 9 <i>Recursos necesarios para la caracterización fisicoquímica y microbiológica de los mostos de tuna y las variedades de tomate</i>	35
Tabla 10 <i>Factores y niveles usados en el diseño experimental</i>	45
Tabla 11 <i>Tratamientos utilizados en el diseño experimental</i>	45
Tabla 12 <i>Esquema ANOVA para el estudio de la bioconservación de tomates al aplicar soluciones bacterianas aisladas de los mostos fermentados de dos tipos de tuna</i>	45
Tabla 13 <i>Variables fisicoquímicas evaluadas en los mostos frescos y fermentados de tuna</i>	46
Tabla 14 <i>Recuento de aerobios, mohos y levaduras en los mostos frescos y fermentados</i>	47
Tabla 15 <i>Pesos y porcentajes entrantes de la materia prima utilizada en la extracción de los mostos</i>	48
Tabla 16 <i>Características morfológicas y bioquímicas de las bacterias ácido lácticas aisladas a partir de los mostos fermentados de dos tipos de tuna</i>	51
Tabla 17 <i>Análisis de varianza obtenido para la variable porcentaje de peso (%pp) en el día 4 de bioconservación</i>	53

Tabla 18 <i>Análisis de varianza obtenido para la variable porcentaje de peso (%pp) en el día 8 de bioconservación</i>	53
Tabla 19 <i>Análisis de varianza obtenido para la variable pH en el día 4 de bioconservación</i>	54
Tabla 20 <i>Análisis de varianza obtenido para la variable pH en el día 8 de bioconservación</i>	54
Tabla 21 <i>Análisis de varianza obtenido para la variable acidez titulable en el día 4 de bioconservación</i>	55
Tabla 22 <i>Análisis de varianza obtenido para la variable acidez titulable en el día 8 de bioconservación</i>	55
Tabla 23 <i>Análisis de varianza obtenido para la variable sólidos solubles en el día 4 de bioconservación</i>	56
Tabla 24 <i>Análisis de varianza obtenido para la variable sólidos solubles en el día 8 de bioconservación</i>	56
Tabla 25 <i>Resultados de la prueba de significancia Tukey para el factor A (tipos de tuna) en las variables fisicoquímicas</i>	57
Tabla 26 <i>Resultados de la prueba de significancia Tukey para el factor B (variedades de tomate) en las variables fisicoquímicas</i>	59
Tabla 27 <i>Resultados de la prueba de significancia Tukey para la interacción AB (tipo de tuna con variedades de tomate) en las variables fisicoquímicas</i>	61
Tabla 28 <i>Matriz de correlación de componentes principales</i>	68
Tabla 29 <i>Resultados de recuentos de mohos y levadura (YM) en el día 4 y aerobios (AC) en el día 8 de bioconservación de los tomates</i>	70

Índice de figuras

Figura 1. Resultados de los petrifilm de mohos, levaduras y aerobios analizados en el mosto de tuna amarilla.....	47
Figura 2. Resultados de los petrifilm de mohos, levaduras y aerobios analizados en los mostos de tuna roja.....	48
Figura 3. Diagrama de flujo que describe el balance de materia y los procesos utilizados en la extracción y fermentación de mostos de dos tipos de tuna.....	49
Figura 4. Árbol filogenético de las secuencias bacterianas aisladas en los mostos fermentados de dos tipos de tuna.....	52
Figura 5. Gráfico de cajas para la variable porcentaje pérdida de peso %pp según el factor A....	57
Figura 6. Gráfico de cajas para la variable pH según el factor A	57
Figura 7. Gráfico de cajas para la variable acidez titulable según el factor A	58
Figura 8. Gráfico de cajas para la variable sólidos solubles %Brix según el factor A	58
Figura 9. Gráfico de componentes.....	69
Figura 10. Dendrograma de los tratamientos aplicados, interacción del tipo de tuna con las variedades de tomate	69

Resumen

En esta investigación, se extrajeron y analizaron los mostos líquidos de dos tipos de tuna, amarilla y roja, los mostos obtenidos se utilizaron como materia prima en procesos de fermentación discontinua. A partir de los mostos fermentados, se aislaron dos especies de bacterias ácido lácticas, que mediante pruebas microbiológicas, bioquímicas y moleculares fueron identificadas como *Leuconostoc mesenteroides* y *Leuconostoc pseudomesenteroides*. Con las bacterias encontradas se prepararon soluciones bacterianas que se aplicaron en tres variedades de tomate, riñón, cherry redondo y cherry pera, para evaluar su efecto bioconservante. Para la evaluación de la bioconservación, se analizaron variables fisicoquímicas y microbiológicas en el tomate durante los días 4 y 8. Con los datos obtenidos se aplicó un diseño experimental factorial de dos factores con dos repeticiones y se analizaron las variables porcentaje de pérdida de peso, pH, acidez titulable y contenido de sólidos solubles. Los resultados del análisis de varianza y las pruebas Tukey, mostraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en las variables porcentaje de pérdida de peso (%pp), acidez titulable y en el contenido de sólidos solubles (%Brix). La evaluación de las interacciones, mostro que los tratamientos donde se aplicó la bacteria ácido láctica aislada de la tuna amarilla *Leuconostoc mesenteroides* fueron las que mejor resultados reportaron, sobre todo en combinaciones con el tomate de la variedad riñón.

Palabra clave: tuna, bacterias ácido lácticas, *Leuconostoc mesenteroides*, bioconservación, tomate

Abstract

In this research, the liquid musts of two types of prickly pear, yellow and red, were extracted and analyzed; the musts obtained were used as raw material in discontinuous fermentation processes. From the fermented musts, two species of lactic acid bacteria were isolated, which through microbiological, biochemical and molecular tests were identified as *Leuconostoc mesenteroides* and *Leuconostoc pseudomesenteroides*. Bacterial solutions were prepared with the bacteria found and applied to three varieties of tomato, “riñón”, “cherry redondo” and “cherry pera”, to evaluate their biopreservative effect. For the evaluation of bioconservation, physicochemical and microbiological variables were analyzed in the tomato during days 4 and 8. With the data obtained, a factorial experimental design of two factors with two repetitions was applied and the variables were analyzed: percentage of weight loss, pH, titratable acidity and soluble solids content. The results of the analysis of variance and the Tukey tests showed significant differences ($p \leq 0.05$) in the variables percentage of weight loss (%pp), titratable acidity and in the content of soluble solids (%Brix). The evaluation of the interactions showed that the treatments where the lactic acid bacterium isolated from the yellow prickly pear *Leuconostoc mesenteroides* was applied were the ones that reported the best results, especially in combinations with the tomato of the “riñón” variety.

Keywords: prickly pear, lactic acid bacteria, *Leuconostoc mesenteroides*, bioconservation, tomato

Capítulo I

Introducción

La tuna *Opuntia ficus indica* pertenece a la familia *Cactacea*, es un cultivo versátil nativo de México que se encuentra ampliamente distribuido en el mundo. En el Ecuador, se puede encontrar cultivares de esta especie en las provincias de Tungurahua, Imbabura y Loja, donde se aprovechan zonas áridas o suelos arenosos que no permiten el desarrollo de otras actividades agrícolas. Su fruto se caracteriza por ser una baya de variadas formas, colores y tamaños, ha ganado mucho interés durante los últimos años, ya que constituye un fruto multipropósito del cual se pueden obtener variedad de productos y subproductos (FAO, 2018). Por ejemplo, a partir del fruto de tuna se puede extraer mucílago, también llamado “pulpa”, es un polisacárido complejo con alto contenido de azúcares, fibra, nutrientes, minerales, vitaminas, carotenoides y otros compuestos, lo que lo convierte en una sustancia de gran interés para aplicaciones alimenticias, nutricionales, industriales e incluso medicinales (Piga, 2004).

La fermentación constituye un importante proceso biotecnológico, que se caracteriza por la producción de microorganismos que pueden ser aprovechados para el desarrollo de múltiples objetivos. Históricamente, la fermentación de alimentos ha sido una herramienta para obtener productos de mayor calidad y con mejores características sensoriales (Verón, Di Risio, Isla, & Torres, 2017). Uno de los beneficios de estos procesos fermentativos, es la obtención de bacterias ácido lácticas, un grupo muy importante de microorganismos debido a su capacidad para producir bacteriocinas, sintetizar metabolitos, como el ácido láctico, potencialmente útiles en aplicaciones antimicrobianas. Además, se ha comprobado que tienen la capacidad de transformar las características organolépticas de los alimentos, por lo tanto, son de gran interés en la industria alimentaria (Sáenz & Ramos Gorbeña, 2008).

El tomate es una de las hortalizas que más se cultiva en el mundo, tienen una gran demanda y representa un alto porcentaje de economía agrícola y comercial. Posee gran diversidad, se puede encontrar múltiples variedades, formas, colores y sabores. Sin embargo, también es una de las especies vegetales más perecederas, ya que es altamente susceptible al daño físico, ataque de patógenos y muchos otros factores que aceleran su deterioro y la pérdida de sus características nutricionales. Esto hace que el manejo postcosecha y la conservación de esta especie, sea un área constante de investigación (López Marín, 2017).

Objetivos

Objetivo general

Aislar y caracterizar bacterias ácido lácticas en el mosto de dos tipos de tuna, amarilla y roja, para la bioconservación de tomate (*Solanum lycopersicum*): riñón, cherry redondo y cherry pera.

Objetivos específicos

Caracterizar las propiedades físico-químicas y microbiológicas del mosto de dos tipos de tuna, amarilla y roja.

Aislar e identificar bacterias ácido lácticas presentes en la fermentación por método discontinuo de dos tipos de tuna amarilla y roja.

Evaluar el efecto de la aplicación de las bacterias ácido lácticas para la bioconservación de tres tipos de tomate (*Solanum lycopersicum*): riñón, cherry redondo y cherry pera.

Determinar mediante análisis físico-químico y microbiológicos la influencia del bioconservante aplicado en las características del tomate (*Solanum lycopersicum*): riñón, cherry redondo y cherry pera.

Hipótesis

Hipótesis nula

H₀: Los dos tipos de tuna, amarilla y roja, no influyen sobre las variables fisicoquímicas y microbiológicas evaluadas durante el proceso de bioconservación de tomates.

H₀: Las variedades de tomate no influyen en las variables fisicoquímicas y microbiológicas analizadas durante la bioconservación.

H₀: Las interacciones entre el tipo de tuna y variedad de tomate, no influyen en los procesos de bioconservación de tomates.

Hipótesis alternativa

H_a: Los tipos de tuna sí influyen en las variables fisicoquímicas y microbiológicas durante la bioconservación de tomates.

H_a: Las variedades de tomate influyen en las variables fisicoquímicas y microbiológicas de los tomates durante la bioconservación.

H_a: Alguna de las interacciones entre el tipo de tuna y variedad de tomate, influye en los procesos de bioconservación.

Capítulo II

Revisión de la literatura

Tuna (*Opuntia ficus indica*)

Origen y Distribución

La tuna (*Opuntia*), es considerada originaria de América, específicamente de la zona céntrica, siendo México su país nativo y donde se pueden encontrar la mayor cantidad de géneros y especies (Terán, Navas, Petit, Garrido, & D'Aubeterre, 2015).

En la actualidad, la distribución de los cultivos de tuna es muy variada se cultiva en varios continentes, como son: América, África, Asia, Europa y Oceanía. Siendo la especie *Opuntia ficus indica* L. Miller, la más domesticada a nivel mundial por sus intereses económicos, alimenticios, agrícolas, medicinales, nutricionales, agroindustriales, entre otros (Reyes-Agüero, Aguirre-Rivera, & M. Hernández, 2005).

Clasificación taxonómica de la tuna

Tabla 1

Taxonomía de la tuna Opuntia ficus indica

Categoría taxonómica	Nombre
Dominio	Eukaryota
Reino	Plantae
Filo	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Caryophyllales
Familia	Cactaceae
Género	<i>Opuntia</i>
Especie	<i>Opuntia ficus indica</i> (L.) Miller

Nota: Recuperado a partir de (Tropicos, 2022).

Cultivo y características

Opuntia ficus indica L. Miller es una planta arbustiva que puede ser cultivada en diversos climas y terrenos, se caracteriza por su capacidad de crecer en zonas áridas y semiáridas, suelos secos, arenosos y poco fértiles (Terán, Navas, Petit, Garrido, & D'Aubeterre, 2015).

Los cultivos de tuna pueden alcanzar hasta 5 m de alto. Se compone de cladodios verdes y espinos, usualmente de forma ovalada o cilíndrica, con dimensiones variables de acuerdo a la edad y especie. Tiene flores de antesis diurna que pueden adquirir varios colores, llegando a producirse hasta 10 por cada cladodio. Con respecto a sus frutos, estos pueden ser ovalados, esféricos o elípticos, miden entre 5 a 10 cm de largo y 4 a 8 cm de diámetro, generalmente tienen cascaras gruesas que cambian su coloración de acuerdo al grado de madurez, pueden ser de color amarillo, anaranjado, rojo, púrpura u otros, también presentan espinas. Su pulpa es suave, jugosa, dulce y contiene las semillas (FAO, 2014). El principal interés en los cultivos de *Opuntia ficus-indica*, radica en la cosecha de sus:

Frutos. Son consumidos como fruta fresca, jugos, bebidas diuréticas, jaleas, miel, mermeladas, etc. A partir de fruto también se pueden obtener las semillas, que a su vez son aprovechadas como materia prima para la extracción y obtención de aceite (Reyes-Agüero, Aguirre-Rivera, & M. Hernández, 2005).

Cladodios. Se consumen como verduras, también se utilizan como forraje en la alimentación de algunos animales. Incluso se emplean como hospederos y productores del insecto cochinilla que es aprovechado industrialmente para la obtención de pigmentos y otros productos (Reyes-Agüero, Aguirre-Rivera, & M. Hernández, 2005).

Composición físico-química de la tuna

Los frutos y cladodios de la tuna son fuente de fibras soluble como mucilagos y pectinas, pigmentos, fenoles y elementos como Calcio (Ca), Magnesio (Mg) y Potasio (K). La pulpa de los

frutos es rica en azúcares como glucosa y fructosa, también en aminoácidos, vitaminas y minerales. La cáscara está constituida por celulosa, calcio y potasio. En las semillas se pueden encontrar proteínas y lípidos de buena calidad (Zenteno-Ramírez, y otros, 2015).

Variedades de tuna

Las variedades de *Opuntia spp.* productoras de tuna es muy amplia, siendo la especie *Opuntia-ficus indica*, la variedad mayormente cultivada y distribuida a nivel mundial. No obstante, también se reportan importantes cultivos de las siguientes variedades: *O. albicarpa*, *O. megacatha*, *O. leucotricha*, *O. streptacantha* y *O. robusta*. Dada la gran cantidad de variantes, así como su variada distribución geográfica, es común que cada país emplee nombres comunes para una misma especie o variedad. También, es frecuente que se concedan según la coloración del fruto, por ejemplo, tuna blanca, púrpura, roja, anaranjada, amarilla, verde, etc. (Rodríguez Martínez, 2007).

En Ecuador, el Instituto Ecuatoriano de Normalización y de acuerdo a la normativa NTE INEN 1 978:2009, se establece que la tuna proveniente de la planta de nopal con destino a consumo alimentario es la *Opuntia ficus indica* L. Miller, y su vez reconoce a las variedades de pulpa color blanco, amarillento y anaranjado como las tuna conocidas y distribuidas en el país corresponde a las (INEN, 2009).

Mosto de tuna

Según la normativa NTE INEN 338, el mosto se define como líquido de origen vegetal que contienen sustancias amiláceas y/o azucaradas susceptibles a transformarse por fermentación (INEN, 1992).

En el caso de la tuna *Opuntia ficus indica*, el mosto o también denominado mucílago, se puede extraer a partir de los cladodios, pulpa y cáscaras de los frutos. Se caracteriza por ser una

sustancia gomosa y espesa, es un carbohidrato complejo compuesto por más de 55 azúcares como α -D-galacturónico, β -L-ramnosa, L-arabinosa y D-xilosa (Jiménez Fernández, 2014).

Para la obtención del mosto de tuna a partir de la pulpa de los frutos se realizan una serie de operaciones, que consisten en: mondado o pelado (eliminación de la cáscara), despulpado (extracción de pulpa) y filtrado (separación de las semillas generalmente por tamizado), adicionalmente para finalizar se puede acondicionar o almacenar el mosto obtenido de acuerdo a las necesidades requeridas (Guerrero Rodríguez, 2018).

Fermentación

Se puede definir como un proceso metabólico en el que se producen sustancias orgánicas, como etanol y ácidos, a partir de carbohidratos como sacarosa, fructosa y lactosa. Este proceso fermentativo se lleva a cabo principalmente por la acción de microorganismos que pueden ser propios del alimento, estar presentes en el ambiente o ser añadidos como cultivos iniciadores. Los principales microorganismos fermentadores son levaduras y bacterias, en este último grupo se destacan a las bacterias propiónicas y ácido lácticas (Lugo-Zarate, y otros, 2021).

Según (Lugo-Zarate, y otros, 2021), los procesos fermentativos de alimentos especialmente en jugos de frutas y hortalizas, han ido ganando interés debido a su alto contenido de azúcares y capacidad de aumentar la conservación, producir metabolitos y mejorar propiedades nutricionales. Así mismo, se destaca que uno de los procesos fermentativos más estudiados es la producción de ácido láctico a partir de bacterias ácido lácticas, ya que son microorganismos muy utilizados debido a su inocuidad y beneficios para la salud.

Fermentación discontinua

Los procesos de fermentación discontinua, también conocida como fermentación por lotes o tipo batch, consiste en un sistema cerrado que se desarrolla en un recipiente denominado biorreactor o fermentador, que permite controlar el ambiente y sus condiciones.

Para los procesos de fermentación discontinua todo el sustrato, nutrientes y demás componentes necesarios, se agregan en la fase cero o inicial, luego durante el proceso de fermentación no se agrega nada más, solo se van controlando las condiciones hasta obtener los productos de interés. Generalmente, se presenta disminución de los nutrientes (azúcares, fuentes de carbono) como consecuencia del aumento de la biomasa o metabolitos y productos. La principal ventaja de este tipo de fermentación radica en sus bajos costes sobre todo en producciones a baja escala (Ingledew & Lin, 2011).

Bacterias ácido lácticas (BAL)

Definición y características

Las bacterias ácido lácticas son un grupo de bacterias que presentan características morfológicas, fisiológicas y metabólicas comunes. Generalmente, tienen forma de cocos o bacilos, se caracterizan por ser microorganismos Gram-positivos, de catalasa negativa y anaerobios facultativos (Ramírez Ramírez, Rosas Ulloa, Velázquez González, Ulloa, & Arce Romero, 2011). Las BAL típicamente, se encuentran en productos lácteos, vegetales, frutos, cárnicos, alimentos fermentados, tracto intestinal y otras mucosas de los animales (Olivera Rodi, 2018).

Estas bacterias pertenecen al filo *Firmicutes*, el cual comprende los géneros *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Oenococcus*, *Weisella* y otros. Se caracterizan por su capacidad para emplear carbohidratos y alcoholes como sustratos de fermentación y generar ácido láctico y productos adicionales como acetato, etanol, dióxido de carbono, entre otros (Parra Huertas, 2010).

Además, debido a su bajo potencial patogénico y sus bajos niveles de infección, las bacterias ácido lácticas son consideradas como organismos generalmente seguros (GRAS) por la FDA (Sánchez & Tromps, 2014). Así mismo, la autoridad europea de seguridad alimentaria

(EFSA), las atribuye como presuntamente seguras (Rodríguez-López, Guzmán-Beltrán, Lara-Morales, Catillo, & Brandao, 2021).

Clasificación de las BAL

La clasificación de las bacterias ácido lácticas se puede realizar de acuerdo con diversos criterios: temperatura de crecimiento, características bioquímicas, géneros y otras características. En la tabla 2, que se presenta a continuación, se muestra la clasificación de las BAL considerando sus temperaturas de crecimiento y características bioquímicas.

Tabla 2

Clasificación de las bacterias ácido lácticas por criterios físicos y bioquímicos

Criterio de clasificación	Grupos	Descripción	Ejemplos
Temperatura de crecimiento	Mesófilas	Temperatura ideal entre 20 a 25 °C, con tiempos de 18 a 20 horas	<i>Lactococcus lactis</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i>
	Termófilas	Temperatura ideal de 40 a 45 °C, con tiempos de 2 a 4 horas	<i>Lactobacillus delbruekii</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus plantarum</i>
Características bioquímicas	Homofermentativas	Convierten la glucosa en dos moléculas de ATP y como producto principal 85% de ácido láctico	<i>Lactococcus</i> <i>Pediococcus</i> <i>Enterococcus</i> <i>Streptococcus</i>
	Heterofermentativas	Convierten la glucosa en una molécula de ATP y como productos 50 % de ácido láctico, acético, etanol y dióxido de carbono	<i>Lactococcus</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Enterococcus</i> <i>Streptococcus</i> <i>Leuconostoc</i> <i>Pediococcus</i>

Nota: Recuperado a partir de (Parra Huertas, 2010) y (Sáenz & Ramos Gorbeña, 2008).

Importancia de las BAL en la industria alimentaria

Desde la antigüedad, los microorganismos han sido ampliamente utilizados en la producción de alimentos, sobre todo fermentados. Las bacterias ácido lácticas, históricamente han sido empleadas para la producción de bebidas alcohólicas, ensilados, fermentaciones

vegetales, cárnicas y lácteas. Los principales productos generados por las BAL consisten en vinos, licores, cereales, encurtidos, salchichas, jamones, quesos, yogurt, kéfir, mantequilla, crema y muchos otros productos (Ramírez Ramírez, Rosas Ulloa, Velázquez González, Ulloa, & Arce Romero, 2011).

La industria alimentaria debe garantizar la calidad, inocuidad y seguridad de los productos alimenticios, es decir, ofrecer alimentos sanos que al ser consumidos no transmitan enfermedades ni perjudiquen la salud de los consumidores. Para cumplir con estos objetivos, las nuevas tendencias en las industrias de alimentos es aplicar conjuntamente los sistemas de control tradicionales en combinación con técnicas biológicas que permiten garantizar en mayor medida la inocuidad y calidad en los alimentos y sus consumidores (Cortés-Sánchez, Díaz-Ramírez, & Salgado-Cruz, 2018).

Las BAL son una propuesta de gran interés para la industria de los alimentos, debido a su capacidad para producir acidificación y metabolitos, que permiten mejorar las características de los alimentos, concederles mayor tiempo de preservación, mejores valores nutricionales y buenas características sensoriales como sabor, olor y textura (Parra Huertas, 2010).

Actividad antimicrobiana

Consiste en inhibir el crecimiento y/o eliminar a los microorganismos patógenos. Las BAL comúnmente presentan estas propiedades, mediante la producción de sustancia de bajo y alto peso molecular. Entre las sustancias de bajo peso molecular producidas por las BAL que presentan actividades antimicrobianas están los ácidos orgánicos, compuestos aromáticos, antioxidantes, peróxido de hidrogeno, acetaldehído, reuterina y otros (Olivera Rodi, 2018). En cambio, las sustancias de alto peso molecular son las bacteriocinas definidas como péptidos antimicrobianos y con capacidad de conservación sobre todo para los alimentos, siendo la nisina la bacteriocina de mayor relevancia (Cañaverl Sánchez, Chalarca Vélez, & Gaviria Arias, 2020).

Además de la producción de sustancias, las BAL presentan mecanismo de competencia y ataque a los patógenos. Por ejemplo, pueden competir por los nutrientes disminuyendo la capacidad de crecimiento y proliferación de los patógenos. También, atacar membranas celulares mediante la formación de poros afectando el equilibrio osmótico causando la muerte de las bacterias patógenas (Lugo-Zarate, y otros, 2021).

Bioconservación

La bioconservación puede definirse como el uso controlado de microorganismos y sus compuestos con la finalidad de aumentar la vida útil, seguridad y calidad de los alimentos (Cortés-Sánchez, Díaz-Ramírez, & Salgado-Cruz, 2018).

Las actuales tendencias y preocupaciones de los consumidores, están enfocadas en la búsqueda de productos alimenticios frescos, sanos, seguros y de calidad. Pero que, a su vez, sean mínimamente procesados, no tengan presencia de químicos, aditivos, preservantes u otras sustancias perjudiciales para la salud del consumidor. Por ello, las alternativas de bioconservación mediante el empleo de microorganismo benéficos, como las BAL y sus derivados está en auge (Jurado-Gámez, Jarrín-Jarrín, & Bustamante-Melo, 2017).

Muchas investigaciones concuerdan en que las BAL y sus productos, especialmente las bacteriocinas, podrían sustituir a los preservantes químicos, ya que, además de proteger y alargar la vida útil del producto, otorgan características adicionales beneficiosas entre las que se destacan propiedades organolépticas y nutricionales (Rojas & Vargas, 2008).

Tomate

Generalidades

El tomate (*Solanum lycopersicum*) es un cultivo nativo de América del Sur, específicamente de la región Andina, es muy versátil, se desarrolla en zonas templadas y cálidas, tiene la su capacidad de soportar amplias variaciones de temperatura. Hoy en día, su producción

se encuentra en constante crecimiento y está distribuida en gran parte del mundo. Constituye una de las hortalizas de gran importancia económica ya que, es una de las más consumidas a nivel mundial. El tomate se consume mayoritariamente en fresco, aunque también se procesa industrialmente para producir pastas, purés, salsas, concentrados, rebanados, deshidratados y otras presentaciones (Baudoin, 2017).

Taxonomía

Tabla 3

*Taxonomía del tomate *Solanum lycopersicum**

Categoría taxonómica	Nombre
Dominio	Eukaryota
Reino	Plantae
Filo	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Género	<i>Solanum</i>
Especie	<i>Solanum lycopersicum</i>

Nota: Recuperado a partir de (López Marín, 2017).

Variedades y tipos de tomate

La clasificación de los tomates puede realizarse considerando diversos factores, como lugar de producción (país), hábito de crecimiento, forma del fruto, calidad del fruto, modo de consumo o uso, entre otros (Baudoin, 2017). Dada la gran demanda de esta hortaliza, las variedades de tomate es un área de constante crecimiento, sobre todo con el desarrollo de variedades híbridas que ofertan mayores tasas de producción, mejor sabor, mayor resistencia a enfermedades u otras características de interés que los hacen más apetecibles y competentes en el mercado (Fornaris, 2007).

Comúnmente, los nombres que se otorgan a los diversos tipos de tomates hacen referencia a su lugar de origen, nombre comercial, nombre tradicional, código híbrido, entre

otros. Sin embargo, entre los tipos de tomates más conocidos se destacan los tomates redondos, RAF, roma, cherry y pera (Gaspar Lasanta, 2013).

En Ecuador, la normativa INEN 2832 reconoce la variedad de tomate *Solanum Lycopersicum esculentum* Mill., con cuatro tipos comerciales, que corresponden a los tomates: “redondos”, “asurcados”, “oblongos” o “largados” y tomates “cereza” o “cóctel” (INEN, 2013).

Manejo postcosecha del tomate

El tomate es un fruto climatérico, es decir tiene tendencia a producir etileno luego de la cosecha, lo que a su vez lo hace susceptible a procesos de maduración más acelerados, por lo tanto, mayor deterioro y pudrición lo que significa acortamiento de su vida útil (Escalona Contreras, Correa San Martín, & González Olivares, 2019).

La podredumbre es una de las principales causas de deterioro en tomates durante la postcosecha, es una hortaliza muy susceptible al ataque de insectos, plagas y enfermedades bacterianas, fúngicas y víricas. Además, tiene una alta tendencia a daños mecánicos, ocasionados por golpes, transporte, cambios de temperatura u otros factores, que repercuten en el deterioros físicos y químicos que alteran la calidad nutricional y sensorial del producto afectando su comercialización (Escalona Contreras, Correa San Martín, & González Olivares, 2019). Por ello, es muy importante la constante búsqueda e implementación de técnicas postcosecha que permitan aumentar la vida útil del producto al mismo tiempo que se garantice su inocuidad y calidad (Baudoin, 2017).

Capítulo III

Metodología

Ubicación del área de investigación

Los estudios se llevaron a cabo en los laboratorios de Bromatología y Microbiología de los alimentos, de la universidad de las fuerzas armadas “ESPE”, extensión Santo Domingo.

Ubicación política

La investigación se desarrolló en el campus Santo Domingo de la universidad de las fuerzas armadas “ESPE”, ubicada en la Hda. “Zoila Luz”, Vía Santo Domingo – Quevedo Km 24, perteneciente a la parroquia rural “Luz de América”, del cantón Santo Domingo, Provincia Santo Domingo de los Tsáchilas, país Ecuador (ESPE, 2022).

Ubicación geográfica

Geográficamente, la universidad está localizada en las siguientes coordenadas, latitud 00°24'45" S, longitud 79°18'34" O y una elevación de 294 m sobre el nivel del mar (Google Earth, 2022).

Ubicación ecológica

La zona correspondiente a la parroquia rural Luz de América pertenece a la región Costa, se caracteriza por una geografía con terrenos alomados y pequeñas planicies, tiene una amplia presencia de ríos y esteros. Se caracteriza por ser una zona climática lluviosa tropical húmeda, siendo su temperatura promedio entre 23 a 24 °C, su rango altitudinal de 120 a 650 msnm, presenta una pluviosidad promedio de 3155 mm al año, con un promedio de 287 días de lluvia y una humedad media mensual del 90%. Sus extensiones de tierra se han dedicado principalmente al uso agropecuario mixto, predominando el cultivo de palma africana, árboles tropicales y ganadería (B&G , 2015).

Materiales

Fermentación del mosto de tuna

Tabla 4

Recursos utilizados para la fermentación de tunas

Materiales e Insumos	Equipos	Reactivos	Muestras
Vaso de precipitación 500 ml	Balanza analítica	Agua destilada	Tuna roja
Vaso de precipitación 1000 ml	Kit biorreactor	Ácido cítrico (2%)	Tuna amarilla
Cuchillo			
Lienzo			

Aislamiento de bacterias ácido lácticas

Tabla 5

Recursos utilizados para el aislamiento de BAL a partir de mostos fermentados de tuna

Materiales e Insumos	Equipos	Reactivos	Muestras
Cajas petri	Balanza analítica	Agua peptona	Mosto fermentado
Magneto	Plancha calentadora	Agar MRS	de tuna roja
Vaso de precipitación 25 ml	con agitación	Alcohol 70%	Mosto fermentado
Vaso de precipitación 250 ml	Autoclave	Alcohol 96%	de tuna amarilla
Tubos de ensayo con tapa rosca	Cámara de flujo laminar		
Asa de Driglasky	Vórtex		
Micropipeta automática 1000 µL	Incubadora		
Puntas para micropipeta			
Parafilm			
Mechero			

Identificación microbiana**Tabla 6***Recursos utilizados para la identificación microbiana de las bacterias aisladas*

Materiales e Insumos	Equipos	Reactivos	Muestras
Asa bacteriológica	Microscopio óptico	Agua destilada	Colonias puras de
Portaobjetos	Computador	Cristal violeta	BAL aisladas
		Lugol	
Mechero		Alcohol cetona	
		Safranina	
		Aceite de inmersión	
		Peróxido de hidrogeno 30%	
		Alcohol 70%	

Solución bacteriana**Tabla 7***Recursos utilizados para la preparación de soluciones bacterianas*

Materiales e Insumos	Equipos	Reactivos	Muestras
Matraz Erlenmeyer 250 ml	Balanza analítica	Agua destilada	Colonias puras de
Asa bacteriológica	Plancha de calentamiento con	MRS BROTH	BAL aisladas
Algodón	agitación	Ácido cítrico	
Parafilm		Citrato de sodio	
Mechero	Autoclave		
Tubos para centrifuga	Cámara de flujo laminar		
Atomizadores	Incubadora		
	Centrífuga		
	Espectrofotómetro		

Bioconservación de tomates**Tabla 8***Recursos utilizados en la bioconservación de tomates*

Materiales e Insumos	Equipos	Reactivos	Muestras
Vasos de precipitación 500 ml	Balanza analítica Autoclave	Agua destilada	Soluciones bacterianas Tomates riñón
Vasos de precipitación 1000 ml	Cámara de flujo laminar Incubadora	Ácido cítrico	Tomates cherry redondo
Bandejas de poliestireno	Centrífuga		Tomates cherry pera
Film plástico de cocina	Espectrofotómetro		

Tabla 9

Recursos necesarios para la caracterización fisicoquímica y microbiológica de los mostos de tuna y las variedades de tomate

Materiales e Insumos	Equipos	Reactivos	Muestras
Vasos de precipitación 100 ml	Balanza analítica Potenciómetro	Agua destilada Hidróxido de sodio (0.1 N)	Mostos de tuna frescos
Vasos de precipitación 250 ml	Refractómetro Autoclave	Agua peptona Petrifilm aerobios	Mostos de tuna fermentados
Pobreta 25 ml Balón aforado 250 ml	Cámara de flujo laminar	Petrifilm mohos y levaduras	Variedades de tomate riñón, cherry redondo
Licuadaora Cedazos	Incubadora Contador de		cherry redondo y cherry pera.
Kit de titulación Pipeta Pasteur Tubos de ensayo Micropipeta automática	colonias		

Métodos

Obtención de la materia prima

La tuna amarilla (pulpa blanca) fue obtenida en el Mercado Cerrado “El Salto” ubicado entre la calle Merchor de Benavides y la avenida 5 de junio de la zona céntrica de la ciudad de Latacunga, provincia de Cotopaxi. En cambio, la tuna roja fue adquirida en el Mercado Municipal Central, ubicado entre la calle Guayaquil y Portoviejo en la zona centro de la ciudad de Santo Domingo de los Tsáchilas.

Por otro lado, las variedades de tomate utilizadas para la bioconservación se adquirieron en los siguientes lugares. El tomate cherry redondo se adquirió en empaques con tarrinas plásticas de aproximadamente 615 g, bajo el nombre “Tomate baby” de la marca comercial “Agrovida” dentro del “mi comisariato” del Paseo Shopping Santo Domingo ubicado entre la Av. Quito y Av. Abraham Calazacón. En cambio, los tomates riñón y cherry pera, se compraron en el Mercado Municipal Central de Santo Domingo mencionado anteriormente.

Fermentación del mosto de tuna

El procedimiento descrito a continuación, se realizó por separado para cada tipo de tuna utilizado en esta investigación, es decir, para las tunas amarillas y rojas.

Primero, se seleccionaron tunas maduras y libres de agentes extraños. Luego, se procedió a lavar las tunas con agua destilada, a continuación, se realizó una desinfección con ácido cítrico al 2%, para lo cual las tunas se sumergieron en la solución desinfectante durante 5 minutos, luego de este tiempo se realizó un segundo lavado con agua destilada.

Una vez limpias y desinfectadas, se procedió a pesar cada tuna. Posteriormente, con ayuda de un cuchillo se peló cada tuna y una vez eliminadas todas las cáscaras, cada tuna fue exprimida con ayuda de un lienzo para obtener el mosto libre de semillas y pulpa. Después, en la

balanza analítica se pesaron por separado el mosto, las cáscaras y semillas resultantes, para realizar el correspondiente balance de materia.

Finalmente, el mosto líquido recolectado fue llevado a un biorreactor donde se desarrolló una fermentación discontinua durante 72 horas, en condiciones anaerobias, con trampa de agua y agitación constante.

Aislamiento de bacterias ácido lácticas

Para el aislamiento de las BAL a partir del mosto fermentado, se comenzó con la preparación y esterilización de los medios de cultivo. Se inició con el agua peptona, para ello en una balanza analítica se pesaron 1.62 g del medio PEPTONE WATER TM 330 y se disolvieron con 108 ml de agua destilada, a fin de obtener agua peptona al 1.5 %, el agua peptona preparada se distribuyó en 12 tubos de ensayo cada uno con 9 mL. También, se preparó el medio sólido agar MRS, para lo cual se pesaron 8.05 g LACTOBACILLUS MRS AGAR TM 147 que se disolvieron en 120 ml de agua destilada, con ayuda de una plancha calentadora con agitación y magneto. Una vez preparados los medios, se procedió con la fase de esterilización, para ello se colocaron en autoclave los medios preparados (medio MRS y tubos con peptona), junto con 6 cajas petri de vidrio, un asa de siembra Driglasky triangular de vidrio y puntas para micropipeta de 1000 µl.

Luego de la esterilización, dentro de la cámara de flujo laminar previamente desinfectada con alcohol al 70 % y luz UV durante 20 minutos, se dejó enfriar el agar MRS hasta obtener una temperatura que permitió manipularlo y transferirlo a las cajas petri, donde se dispensaron aproximadamente 20 ml de medio en cada placa, las placas se taparon y dejaron enfriar hasta que el medio solidificó por completo. Los tubos de peptona y demás materiales también se llevaron a la cámara, donde adicionalmente se introdujo una micropipeta automática con capacidad de 1000 µl y un mezclador VORTEX para tubos.

Para la preparación de las disoluciones seriadas, para cada tipo de tuna se etiquetaron 6 tubos con agua peptona con los factores desde 10^{-1} hasta 10^{-6} , luego con ayuda de la micropipeta automática se tomaron 1 ml (1000 μ L) del mosto fermentado y se agregaron al primer tubo (10^{-1}), el tubo se llevó al agitador vórtex donde se homogenizó la muestra durante aproximadamente un minuto, luego se tomó 1 ml del tubo homogenizado y se transfirió al tubo del factor 10^{-2} y así sucesivamente se repitió el procedimiento hasta obtener el la disolución con el factor 10^{-6} .

A partir de las disoluciones obtenidas, se realizó la siembra en placa aplicando el método de extensión en superficie por triplicado para cada variedad de tuna. Se tomaron 100 μ L (0.1 ml) de la disolución 10^{-6} y se colocaron en el centro del medio agar sólido, enseguida con ayuda de un asa de Driglasky fría, previamente esterilizada con alcohol y fuego, se distribuyó la muestra por toda la superficie del agar mediante movimientos suaves y circulares. A continuación, se cerraron las cajas con Parafilm, se etiquetaron y llevaron a la incubadora a 37 °C durante 48 horas (Collins, Lyne, Grange, & Falkinham III, 2004).

Las colonias formadas se volvieron a aislar mediante el método de estrías para obtener cultivos puros (Leboffe & Pierce, 2011). Nuevamente, se prepararon y esterilizaron 6 cajas petri con agar MRS, una vez listas para la siembra, con un asa bacteriológica, previamente esterilizada, se tomó una colonia a partir de la cual se realizó la siembra con rayado simple. Al igual que en la siembra anterior, se realizaron siembras por triplicado para cada variedad de tuna.

Identificación microbiana

Identificación microscópica. Se inició con la preparación de un frotis de células microbianas, para ello en el centro de un portaobjetos se colocó una gota de agua destilada. Seguido, con la ayuda de un asa bacteriológica se tomó una colonia de bacterias que se diluyó y

extendió uniformemente sobre la superficie del portaobjetos. Luego, se fijó la muestra con la ayuda del mechero hasta secarla por completo, lo que se evidenció con una macha ligeramente blanquecina.

Posteriormente, se procedió con la tinción Gram (Leboffe & Pierce, 2011), se inició añadiendo cristal violeta durante 1 minuto al portaobjetos con la muestra fijada. A continuación, se agregó lugol y se dejó actuar durante 1 minuto. Después, se decoloró con alcohol cetona durante 30 segundos y finalmente se colocó safranina por 1 minuto. Luego de cada colorante aplicado, se realizó lavados con agua destilada dejando secar la muestra antes de añadir el siguiente reactivo. El portaobjetos seco, se llevó al microscopio óptico donde se añadió una gota de aceite de inmersión para visualizar las bacterias con el lente objetivo 100x.

Identificación bioquímica. Se realizó la prueba de catalasa, con ayuda de un asa bacteriológica se tomó una colonia bacteriana que se distribuyó sobre un portaobjetos limpio y seco, sobre las bacterias extendidas se añadieron gotas de peróxido de hidrogeno al 30% (H_2O_2), se dejó actuar durante 30 segundos para detectar la formación o no de burbujas, para determinar la presencia o ausencia de la enzima catalasa (Leboffe & Pierce, 2011).

Identificación molecular. Cultivos frescos de colonias bacterianas aisladas en placas de agar MRS, fueron enviados a la empresa surcoreana de biotecnología MacroGen, Inc. en Seúl, donde se realizó la extracción de ADN, amplificación y secuenciación del gen ARNr 16 S mediante 2 sets de primers universales 758F/907R y 27F/1492R. Las secuencias obtenidas se compararon mediante la herramienta en línea BLAST (NCBI, 2022), donde ingresó la secuencia nucleotídica para ver los alineamientos y similitudes con otras secuencias de la base de datos.

Finalmente, desde NCBI se descargaron 15 secuencias nucleotídicas de ADN ribosomal de la región 16 S en formato FASTA, a estas secuencias se agregaron las dos obtenidas de las bacterias aisladas de los mostos de tuna fermentados. En el software “Molecular Evolutionary

Genetic Analysis" (MEGA), se importó el conjunto de secuencias, con las cuales se hizo un alineamiento múltiple empleando el algoritmo *MUSCLE* y "*Neighbor joining*" como método *CLUSTER*. A partir de la alineación obtenida, se construyó un árbol filogenético con 1000 repeticiones por el método Bootstrap y p-distance.

Solución bacteriana

Para la solución bacteriana se inició preparando el medio líquido MRS, con ayuda de una plancha calentadora con agitación, se disolvieron en 400 ml de agua destilada 22.06 g de medio MRS BROTH TM 147. Luego de disolver completamente el medio, se lo transfirió a dos matraces Erlenmeyer, cada uno con un volumen aproximado de 200 ml. Los matraces junto a un asa bacteriológica se llevaron a esterilizar en el autoclave a 121 °C durante 15 minutos. Después, se llevó el medio a la cámara de flujo laminar previamente desinfectada y se esperó a que enfrié. A continuación, se empezó la inoculación de las bacterias, con el asa bacteriológica se tomaron colonias de las BAL anteriormente aisladas y se las disolvió en el medio líquido, luego se colocaron tapones de algodón en los cuellos de los erlenmeyer finalizando el sellado con parafilm. Luego de la siembra los matraces se llevaron a la incubadora a 37 °C por 24 horas para su propagación.

Posteriormente, se prepararon 1000 ml de solución tampón ácido cítrico-citrato de sodio (pH 3.8), el medio líquido con las bacterias se distribuyó en tubos de centrifuga que fueron llevados a centrifugación (8000 rpm durante 15 minutos) para recuperar las células bacterianas. Se eliminó el primer sobrenadante obtenido, y se realizaron lavados con el tampón ácido cítrico-citrato de sodio. Para ello, en cada tubo se le agregó 6 ml de la solución tampón, se llevaron a la centrifuga por 15 minutos, nuevamente se eliminó el sobrenadante y se repitió el proceso con un segundo lavado que permitió obtener sobrenadante traslúcido. Después, se agregaron 5 ml de la solución tampón en cada tubo y se realizó agitaciones fuertes con ayuda del vórtex hasta

disolver por completo el precipitado (Di Cagno, y otros, 2016). Finalmente, las soluciones bacterianas se transfirieron a atomizadores 200 ml.

Bioconservación de tomates

Los tomates de las tres variedades fueron pesados y lavados con agua destilada, luego se les realizó desinfección con ácido cítrico (2%) durante 10 minutos. A continuación, se les aplicó las soluciones bacterianas derivadas de los dos tipos de tuna, se dejaron secar a temperatura ambiente. Los tomates con la solución bacteriana se conservaron durante 8 días dentro de bandejas de poliestireno cubiertas con film plástico de cocina.

Variables físicas, químicas y microbiológicas analizadas

Las variables que se describen a continuación, fueron analizadas en las tres variedades de tomate durante los días 4 y 8 de la bioconservación, a fin de evaluar sus efectos. Además, las mismas variables, a excepción del porcentaje de pérdida de peso, también se estudiaron en la caracterización de los mostos de los dos tipos de tuna, amarilla y roja, antes (mostos frescos) y después de la fermentación (mostos fermentados).

Pérdida de peso (%pp). Para la determinación de la pérdida de peso durante la bioconservación, los tomates de las tres variedades fueron pesados en los días 0, 4 y 8. Luego, con los pesos obtenidos se aplicó la siguiente fórmula para determinar el porcentaje de pérdida de peso (Prasad, Sharma, Sethi, & Srivastav, 2019):

$$\text{pérdida de peso (\%pp)} = \frac{\text{peso inicial} - \text{peso final}}{\text{peso inicial}} \times 100$$

Concentración ion hidrógeno (pH). Para la establecer la concentración del ion hidrógeno se utilizó el método potenciométrico de acuerdo a lo establecido en la normativa INEN 389 (INEN, 1985).

Primero, se procedió a triturar los tomates con ayuda de una licuadora y un pequeño volumen de agua destilada. Una vez homogenizado el contenido, con ayuda de un colador se

separaron las semillas y los otros materiales sólidos presentes. A partir del líquido obtenido, se tomaron 10 ml con una probeta y se transfirieron a un balón de aforo de 100 ml al cual se le agregó agua destilada, se mezcló y tomó un pequeño volumen en un vaso de precipitación para medir el pH, se utilizó un potenciómetro BOECO BT-675 calibrado, el electrodo del potenciómetro se sumergió en la muestra líquida y se tomó el dato de pH arrojado por el equipo.

Acidez titulable. Se siguió la metodología establecida en la norma INEN 381, en la cual se establece la acidez titulable de conservas y jugos mediante el método potenciométrico (INEN, 1985). Al igual que en la determinación del pH, fue necesario realizar un pretratamiento a los tomates, una vez obtenidas las muestras líquidas tomaron 25 ml y se aforaron hasta 250 ml en matraces volumétricos. Continuando con el análisis, una vez lista la disolución se tomaron 25 ml y se colocaron en un vaso de precipitación de 100 ml, el vaso se llevó al potenciómetro para determinar la medida de pH inicial. A parte, se prepararon kits de titulación con solución de hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 N, en el vaso de precipitación con la muestra se fue agregando gotas de NaOH y midiendo el pH hasta que se alcanzar un valor aproximado de 8.1.

A partir de los datos obtenidos se realizó el cálculo de la acidez mediante la siguiente fórmula (INEN, 1985).

$$A = \frac{(V_1 N_1 M) 10}{V_2}$$

Donde:

$A = g$ de ácido en 1000 cm^3 de producto

$V_1 = cm^3$ de NaOH usados para la titulación de la alícuota

$N_1 = normalidad$ de la solución NaOH

$M = peso$ molecular del ácido considerado como referencia

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

Sólidos solubles (°Brix). Se determinó el contenido de sólidos solubles por el método refractométrico, según la norma INEN 380. Para los ensayos, se consideraron las muestras filtradas de las variedades de tomate como productos líquidos claros, de cada muestra con ayuda de una pipeta de Pasteur se tomaron un par de gotas y se las colocaron directamente sobre el prisma de muestreo del refractómetro, a continuación, se colocó la cubierta difusora y se ajustó el enfoque del ocular y se realizó la observación para determinar el porcentaje en masa de sacarosa expresado en grados % brix (°Brix) (INEN, 1985).

Análisis de aerobios, mohos y levaduras. Se realizaron recuentos microbianos mediante placas comerciales 3M de Petrifilm™ R-AC para bacterias aerobias y Petrifilm™ YM para mohos y levaduras. La metodología, recuento e interpretación de los resultados se realizó de acuerdo a las instrucciones del fabricante (3M Microbiology, 2003).

Se inicio preparando tubos con disoluciones en agua peptona de las muestras, principalmente se utilizaron disoluciones 10^{-3} y 10^{-4} , con una micropipeta automática se tomaron 1000 μ l del tubo con el factor de disolución de interés, se retiró la cubierta plástica de la placa y colocó la muestra en el centro absorbente de la placa, despacio y evitando la formación de burbujas. A continuación, se cubrió nuevamente la placa con la cubierta plástica, se etiquetaron los petrifilm y se llevaron a incubar durante 48 horas para aerobios y 72 horas para los hongos. Luego de este tiempo, se realizó el recuento, donde cada punto o coloración se consideró como una colonia formada, el número de colonias se transformó a UFC/ml mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Recuento (UFC/ml)} = \frac{\text{número de colonias} * \text{inverso del factor de disolución}}{\text{volumen inoculado}}$$

Diseño Experimental

Tipo de diseño

Con la finalidad de evaluar el efecto de los factores, tipo de tuna y variedades de tomate, y sus interacciones sobre la bioconservación de tomates, la investigación se desarrolló en base a un diseño factorial con dos factores y 2 repeticiones.

Modelo matemático

El modelo matemático para el diseño bifactorial con repeticiones es (Marin, 2021):

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Para $i = 1, \dots, a$; $j = 1, \dots, b$; $k = 1, \dots, n$; donde:

- μ es el efecto medio global.
- α_i es el efecto incremental sobre la media causado por el nivel i del factor A.
- β_j es el efecto incremental sobre la media causado por el nivel j del factor B.
- $(\alpha\beta)_{ij}$ es el efecto incremental sobre la media causado por la interacción del nivel i del factor A y el nivel j del factor B.
- ε_{ijk} es el término de error

Factores, niveles y tratamientos

Como se detalla en la tabla 10, se analizaron dos factores de estudio, el factor A correspondiente a los tipos de tuna, con dos niveles: tuna amarilla y tuna roja. El factor B representado por las variedades de tomate, donde se examinaron 3 niveles: tomate riñón, cherry redondo y cherry pera.

En la tabla 11, se describen las interacciones entre los factores de estudio y sus niveles, que un total de 6 tratamientos.

Tabla 10

Factores y niveles usados en el diseño experimental

Factores	Niveles
A: Tipos de tuna	a₀: tuna amarilla a₁: tuna roja
B: Variedades de tomate	b₀: tomate riñón b₁: tomate cherry redondo b₂: tomate cherry pera

Tabla 11

Tratamientos utilizados en el diseño experimental

N°	Tratamientos	Descripción de la Interacción
1	a ₀ b ₀	tuna amarilla + tomate riñón
2	a ₀ b ₁	tuna amarilla + tomate cherry redondo
3	a ₀ b ₂	tuna amarilla + tomate cherry pera
4	a ₁ b ₀	tuna roja + tomate riñón
5	a ₁ b ₁	tuna roja + tomate cherry redondo
6	a ₁ b ₂	tuna roja + tomate cherry pera

Análisis estadístico

Mediante el programa estadístico "STATISTICA", se realizaron análisis de varianza ANOVA con un nivel de significancia $\alpha=0.05$, para cada variable físico química estudiada (%pérdida de peso, pH, acidez titulable y sólidos solubles) en los días 4 y 8 de la bioconservación de los tomates. También, se hicieron test de comparación mediante el método Tukey ($p<0.05$) a fin de encontrar los grupos significativamente diferentes.

Tabla 12

Esquema ANOVA para el estudio de la bioconservación de tomates al aplicar soluciones bacterianas aisladas de los mostos fermentados de dos tipos de tuna.

Fuente de variación	Grados de libertad	
Factor A (tipo de tuna)	a - 1	1
Factor B (variedades de tomate)	b - 1	2
Interacción AB (tipo de tuna x variedad de tomate)	(a - 1) (b - 1)	2
Replicas	(r - 1)	1
Error		5
TOTAL	abr - 1	11

Capítulo IV

Resultados

Caracterización fisicoquímica y microbiológica del mosto de tuna fresco y fermentado

Como se puede apreciar en la tabla 12, las variables analizadas en el mosto de los dos tipos de tuna varían de acuerdo a la condición del mosto. En el caso del pH, tanto en la tuna amarilla como en la roja, los valores en el mosto fresco son más altos comparados con los datos obtenidos en los mostos fermentados. Para la acidez titulable, se tomó como referencia al ácido cítrico para los cálculos, ya que es el ácido reportado con presencia en el jugo del fruto de tuna (Lemus & Mendoza Ramos, 2011). De acuerdo a los datos obtenidos, se puede apreciar que existe un aumento de la acidez titulable en el mosto fermentado para ambos tipos de tuna. Por otro lado, el porcentaje de grados brix varía entre los tipos de tuna, en caso de la tuna amarilla los valores se mantienen muy similares en mosto fresco y fermentado. A diferencia de la tuna roja, donde el porcentaje sólidos solubles disminuye en mayor cantidad durante la fermentación.

Tabla 13

Variables fisicoquímicas evaluadas en los mostos frescos y fermentados de tuna

Variable	Tuna amarilla		Tuna roja	
	Mosto fresco	Mosto fermentado	Mosto fresco	Mosto fermentado
pH	5.98	3.46	5.45	3.69
Acidez titulable (% ac. cítrico)	0.003072	0.09728	0.00512	0.0576
Sólidos solubles (% Brix)	13.2	13.17	12	6.67

En la tabla 13, se observa el resumen del recuento de mohos y levaduras encontrados en los mostos frescos y fermentados de los dos tipos tuna. Además, las figuras 1 y 2 muestran las fotografías de los petrifilm obtenidos.

Tabla 14

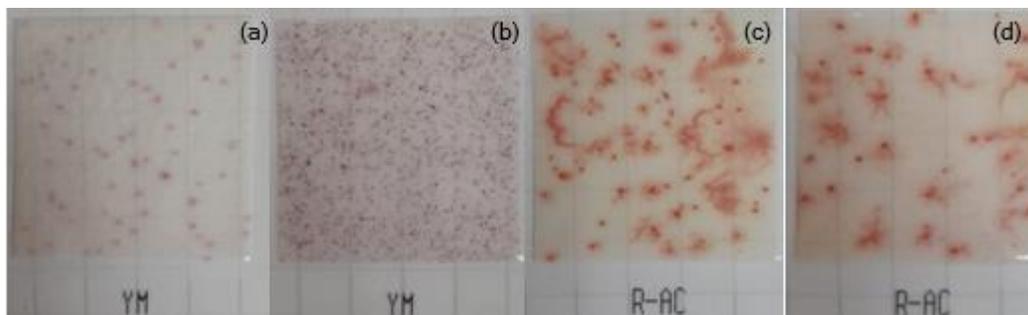
Recuento de aerobios, mohos y levaduras en los mostos frescos y fermentados

Variable	Factor de disolución	Unidad	Tuna amarilla (TA)		Tuna roja (TR)	
			Mosto fresco	Mosto fermentado	Mosto fresco	Mosto fermentado
Aerobios	10^{-3}	UFC/ml	8.0×10^4	4.4×10^4	4.2×10^4	9.7×10^4
Mohos y levaduras	10^{-4}	UFC/ml	6.6×10^5	*MNPC	0	*MNPC

Nota. El crecimiento de mohos y levaduras (YM), en los mostos fermentados de ambos tipos de tuna (amarilla y roja) fueron muy numerosos, por lo que se decidió reportar los resultados del conteo de colonias como “muy numerosas para contar” *MNPC (3M Microbiology, 2003).

Figura 1

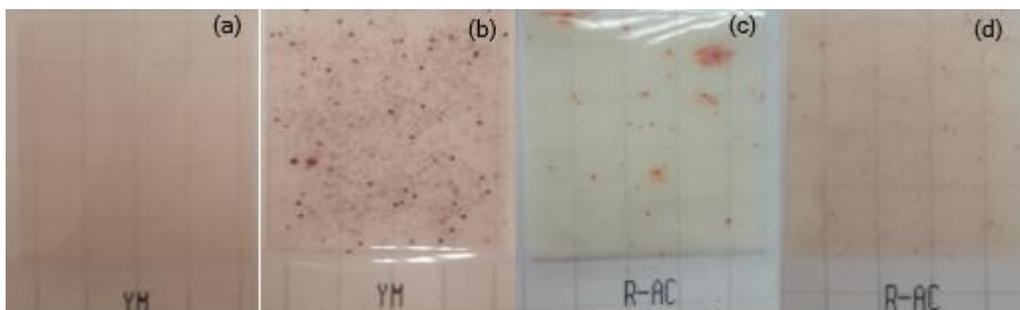
Resultados de los petrifilm de mohos, levaduras y aerobios analizados en el mosto de tuna amarilla



Nota. En la figura 1 se presentan las fotografías de los resultados microbiológicos obtenidos en los petrifilm analizados en los mostos frescos y fermentados del tipo de (TA) tuna amarilla. (a) petrifilm mohos y levaduras del mosto TA fresco, (b) petrifilm mohos y levaduras del mosto TA fermentado, (c) petrifilm aerobios del mosto TA fresco, (d) petrifilm aerobios del mosto TA fermentado.

Figura 2

Resultados de los petrifilm de mohos, levaduras y aerobios analizados en los mostos de tuna roja



Nota. En la figura 2 se presentan las fotografías de los resultados microbiológicos obtenidos en los petrifilm analizados en los mostos frescos y fermentados del tipo (TR) tuna roja. (a) petrifilm mohos y levaduras del mosto TR fresco, (b) petrifilm mohos y levaduras del mosto TR fermentado, (c) petrifilm aerobios del mosto TR fresco, (d) petrifilm aerobios del mosto TR fermentado.

Rendimiento de mostos extraídos a partir de dos tipos de tuna

Balance de materia

Para el balance de materia se consideraron los pesos y porcentajes de la materia prima utilizada en la extracción de los mostos (tabla 14), a partir de estos valores se construyó un diagrama de flujo donde se describen las operaciones y los porcentajes respectivos de cada proceso (figura 3).

Tabla 15

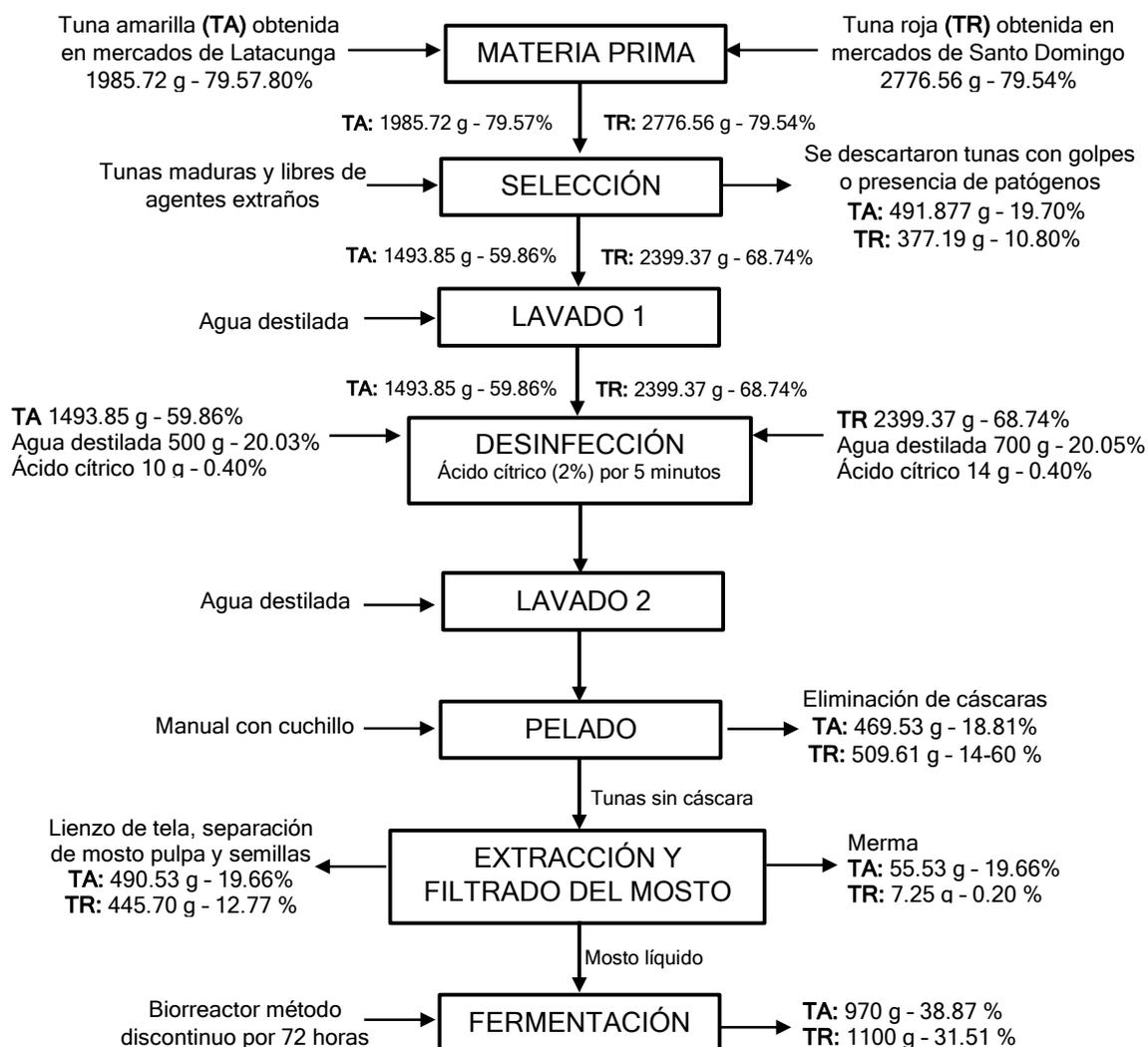
Pesos y porcentajes entrantes de la materia prima utilizada en la extracción de los mostos

Materia prima e insumos	Tuna amarilla		Tuna roja	
	Pesos (g)	Porcentaje (%)	Pesos (g)	Porcentaje (%)
Tuna	1985.72	79.57	2776.56	79.54
Agua destilada	500	20.03	700	20.05
Ácido cítrico (2%)	10	0.40	14	0.40
TOTAL	2495.72 g	100 %	3490.56 g	100 %

Figura 3

Balance de materia y los procesos utilizados en la extracción y fermentación de mostos de dos

tipos de tuna



Rendimiento del mosto de tuna

El rendimiento de los mostos líquidos extraídos a partir de los frutos de los dos tipos de tuna, se obtuvo con los datos de los pesos obtenidos en el balance de materia descrito en la figura 3 y aplicando la siguiente fórmula de rendimiento.

$$\text{Rendimiento } (R) = \frac{\text{Peso final } (P.F)}{\text{Peso inicial } (P.I)} * 100 \%$$

Rendimiento del mosto tuna amarilla (TA)

$$R (TA) = \frac{970 \text{ g}}{2495.72 \text{ g}} * 100 \%$$

$$R (TA) = 38.87\%$$

El porcentaje de rendimiento de mosto líquido extraído de los frutos de la tuna amarilla fue del 38.87%.

Rendimiento del mosto tuna roja (TR)

$$R (TR) = \frac{1100 \text{ g}}{3490.56 \text{ g}} * 100 \%$$

$$R (TR) = 31.51\%$$

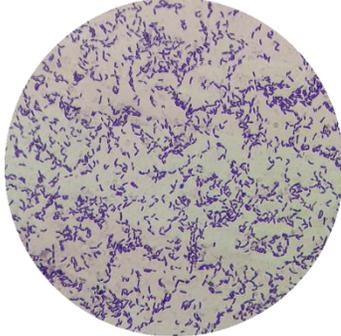
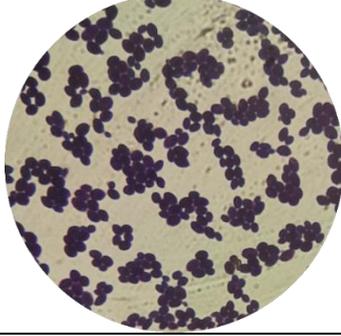
El porcentaje de rendimiento de mosto líquido extraído de los frutos de la tuna roja fue del 31.51%.

Identificación microbiana de las BAL aisladas en los mostos de tuna fermentados***Resultados de la identificación microscópica y bioquímica***

Como se detalla en la tabla 15, las BAL aisladas a partir de los mostos fermentados de los dos tipos de tuna, presentaron características de bacterias grampositivas, ya que mediante la tinción se observaron bacterias con coloración violeta. Con respecto a la morfología, la observación microscópica evidenció bacterias con forma de cocos en los aislados fermentados de ambos tipos de tuna. Finalmente, la prueba bioquímica de catalasa realizada fue negativa para ambas bacterias, dado que no se detectó la formación de burbujas durante el test.

Tabla 16

Características morfológicas y bioquímicas de las bacterias ácido lácticas aisladas a partir de los mostos fermentados de dos tipos de tuna

Procedencia	Imagen microscopio 100 x	Características	Prueba catalasa
Mosto fermentado tuna amarilla		Forma cocoide Gram positivas Catalasa negativa	
Mosto fermentado tuna roja		Forma cocos Gram positivas Catalasa negativa	

Resultados moleculares de la identificación microbiana

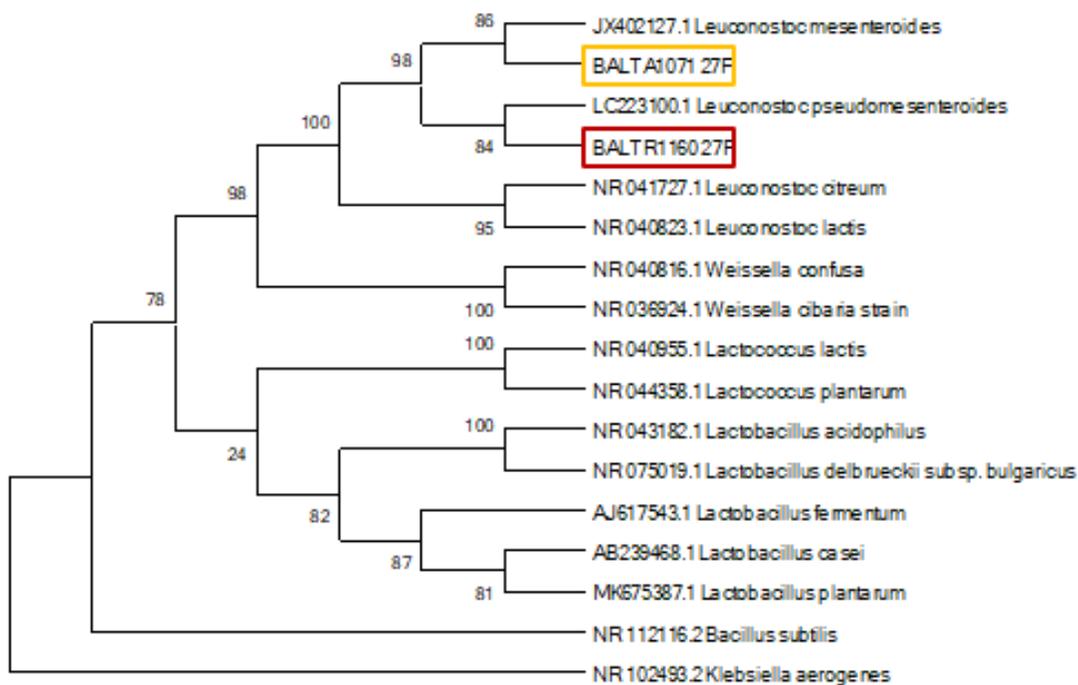
La identificación molecular realizada a partir de la región 16S del ARN por Macrogen, Inc., permitió la obtención de diversas secuencias, de las cuales se tomaron las obtenidas por el promotor 27F (AGAGTTTGATCMTGGCTCAG), debido a que este promotor presentaba un mayor número de nucleótidos, 1071 nt para la bacteria aislada de la tuna amarilla y 1160 nt para la bacteria aislada de la tuna roja.

A partir de estas secuencias, se realizó un análisis BLAST donde se identificó que la BAL aislada del mosto fermentado de tuna amarilla tiene una similitud del 99% con la bacteria *Leuconostoc mesenteroides* y la BAL aislada del mosto fermentado de tuna roja un 98% con

Leuconostoc pseudomesenteroides. Posteriormente, se construyó el árbol filogenético que se muestra en la figura 4, donde se confirma los resultados obtenidos en el análisis BLAST.

Figura 4

Árbol filogenético de las secuencias bacterianas aisladas en los mostos fermentados de dos tipos de tuna



Nota. Dentro de la figura 4, la secuencia de la bacteria aislada a partir del mosto fermentado de la tuna amarilla se representa con el código BALTA107127F, y la proveniente del mosto fermentado de tuna roja se indica como BALTR116027F. La secuencia de *Klebsiella aerogenes* fue utilizada como grupo externo.

Resultados estadísticos

Análisis de varianza

A continuación, se presentan los resultados obtenidos de los análisis de varianza (ANOVA) realizados para las variables fisicoquímicas: porcentaje pérdida de peso, pH, acidez titulable y sólidos solubles, durante los días 4 y 8 de la bioconservación.

Análisis de varianza para la variable porcentaje de pérdida de peso (%pp)

Tabla 17

Análisis de varianza obtenido para la variable porcentaje de peso (%pp) en el día 4 de

bioconservación

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Factor A	2.33994	1	2.339947	44749.00	0.000000
Factor B	6.516315	2	3.258158	62308.81	0.000000
AB	2.948661	2	1.474330	28195.01	0.000000
Repetición	0.000326	1	0.000326	6.23	0.054800
Error	0.000261	5	0.000052		
TOTAL	11.80551	11			

Nota. Los datos de los valores-P que están señalados con coloración roja, indican la presencia de diferencias significativas ($p < 0.05$). La tabla ANOVA esta recuperada y adaptada a partir del ANOVA obtenido en el programa STATISTICA.

En la tabla 16, se muestra el análisis de varianza para la variable porcentaje pérdida de peso (%pp) en el día 4 de bioconservación. Se muestran diferencias significativas en el factor A: tipos de tuna; factor B: variedades de tomate y la interacción AB: tipo de tuna y variedad de tomate. Las repeticiones no mostraron diferencias significativas lo que indica normalidad en la toma de datos.

Tabla 18

Análisis de varianza obtenido para la variable porcentaje de peso (%pp) en el día 8 de

bioconservación

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Factor A	2.51160	1	2.51160	3836.16	0.000000
Factor B	21.12477	2	10.56238	16132.73	0.000000
AB	9.42165	2	4.71082	7195.20	0.000000
Repetición	0.00132	1	0.00132	2.01	0.215069
Error	0.00327	5	0.00065		
TOTAL	33.06261	11			

En la tabla 17, se presenta el ANOVA para la variable %pp en el día 8 de bioconservación, se evidencian diferencias significativas en: factor A tipos de tuna, factor B variedades de tomate y la interacción AB tipo de tuna con variedad de tomate. Sin embargo, no se mostraron diferencias significativas en las repeticiones lo que indica normalidad de los datos.

Análisis de varianza para el potencial de hidrógeno (pH)

Tabla 19

Análisis de varianza obtenido para la variable pH en el día 4 de bioconservación

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Factor A	0.0114	1	0.0114	1.05	0.351487
Factor B	0.0649	2	0.0324	3.00	0.139366
AB	0.0025	2	0.0012	0.11	0.894478
Repetición	0.0271	1	0.0271	2.50	0.174441
Error	0.0541	5	0.0108		
TOTAL	0.1599	11			

Nota. La tabla ANOVA esta recuperada y adaptada a partir del ANOVA obtenido en el programa STATISTICA.

El ANOVA para la variable pH del día 4 de bioconservación de la tabla 18, indica que no existen diferencias significativas ($\alpha= 0.05$) para ninguno de sus factores, A: tipo de tuna, B: variedades de tomate. Tampoco en la interacción AB (tipo de tuna y variedad de tomate), ni en las réplicas realizadas.

Tabla 20

Análisis de varianza obtenido para la variable pH en el día 8 de bioconservación

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Factor A	0.0234	1	0.0234	0.564	0.486428
Factor B	0.1345	2	0.0673	1.621	0.286666
AB	0.0062	2	0.0031	0.075	0.928850
Repetición	0.0271	1	0.0271	0.652	0.455919
Error	0.2075	5	0.0415		
TOTAL	0.3987	11			

El ANOVA para la variable pH del día 8 de la bioconservación, se mantiene similar al día 4, ya que como se puede apreciar en la tabla 19, no se evidencian diferencias significativas en ninguno de sus factores (tipo de tuna y variedades de tomate), tampoco en su interacción, ni en las réplicas realizadas.

Análisis de varianza para el porcentaje de acidez titulable

Tabla 21

Análisis de varianza obtenido para la variable acidez titulable en el día 4 de bioconservación

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Factor A	1.43E-08	1	1.43E-08	70.700	0.000390
Factor B	4.55E-08	2	2.27E-08	112.112	0.000070
AB	5.99E-08	2	2.99E-09	14.774	0.007969
Repetición	3.50E-11	1	3.50E-11	0.172	0.695192
Error	1.01E-11	5	1.03E-10		
TOTAL	6.68E-08	11			

El análisis de varianza obtenido para la acidez titulable, calculada en referencia el ácido cítrico, en el día 4 de bioconservación se encuentra representado en la tabla 20 que muestra diferencias significativas para el factor A tipos de tuna; factor B variedades de tomate y la interacción AB. Mientras que las repeticiones no se presentan diferencias significativas, lo que indica normalidad.

Tabla 22

Análisis de varianza obtenido para la variable acidez titulable en el día 8 de bioconservación

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Factor A	4.92E-10	1	4.92E-10	17.308	0.008822
Factor B	3.28E-08	2	1.64E-08	577.000	0.000001
AB	3.81E-09	2	1.91E-09	67.154	0.000244
Repetición	2.18E-12	1	2.18E-12	0.777	0.792613
Error	1.42E-10	5	2.84E-11		
TOTAL	3.72E-08	11	1.88E-08		

En la tabla 21 se presenta el ANOVA para la variable acidez titulable del día 8 de bioconservación, se identifican diferencias significativas en: factor A tipos de tuna; factor B variedades de tomate y la interacción AB. Con respecto a las repeticiones, no se presentan diferencias significativas.

Análisis de varianza para el contenido de sólidos solubles (%Brix)

Tabla 23

Análisis de varianza obtenido para la variable sólidos solubles en el día 4 de bioconservación

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Factor A	0.06750	1	0.06750	1.2310	0.317703
Factor B	4.26500	2	2.13250	38.8906	0.000897
AB	0.19500	2	0.09750	1.7781	0.261047
Repetición	0.14083	1	0.14083	2.5684	0.169921
Error	0.27417	5	0.05483		
TOTAL	4.94250	11			

En la tabla 22 se muestra el análisis de varianza realizado para la variable sólidos solubles durante el día 4 de bioconservación. El ANOVA muestra diferencias significativas para el factor B, variedades de tomate. Mientras que para los tipos tuna (factor A), las interacciones entre tipo de tuna y variedad de tomate (AB) y repetición no se detectan diferencias significativas.

Tabla 24

Análisis de varianza obtenido para la variable sólidos solubles en el día 8 de bioconservación

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Factor A	0.16333	1	0.16333	1.6443	0.255969
Factor B	2.28500	2	1.14250	11.5017	0.013471
AB	0.22167	2	0.11083	1.1158	0.397509
Repetición	0.40333	1	0.40333	4.0604	0.100001
Error	0.49667	5	0.09933		
TOTAL	3.57000	11			

En la tabla 23, se presenta el análisis de varianza obtenido para el contenido de sólidos solubles en el día 8 de bioconservación, el cual solo muestra diferencias significativas para el factor B, variedades de tomate. No se evidencian diferencias significativas en el factor A, interacción AB ni las repeticiones.

Pruebas de significancia Tukey para las variables fisicoquímicas analizadas

Pruebas de significancia Tukey para el Factor A (tipo de tuna)

Tabla 25

Resultados de la prueba de significancia Tukey para el factor A (tipos de tuna) en las variables fisicoquímicas

Factor A	%pp		pH		Acidez titulable		%Brix	
	Día 4	Día 8	Día 4	Día 8	Día 4	Día 8	Día 4	Día 8
Tuna amarilla	0.203 ^B	2.493 ^A	4.512 ^A	4.515 ^A	0.000212 ^A	0.000137 ^A	1.90 ^A	2.03 ^A
Tuna roja	1.087 ^A	1.578 ^B	4.450 ^A	4.603 ^A	0.000143 ^B	0.000124 ^B	1.75 ^A	2.27 ^A

Figura 5

Gráfico de cajas para la variable porcentaje pérdida de peso %pp según el factor A

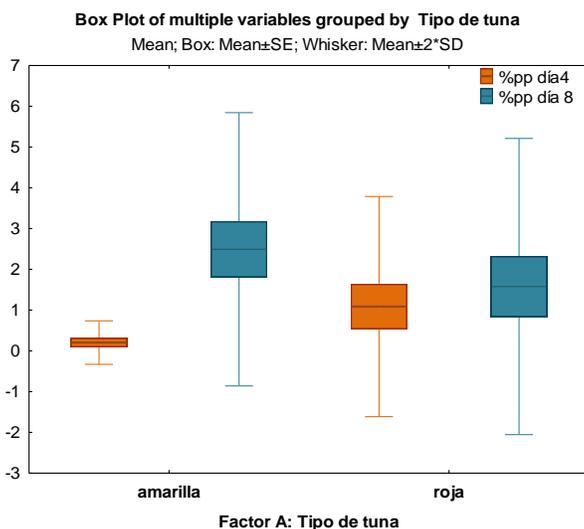


Figura 6

Gráfico de cajas para la variable pH según el factor A

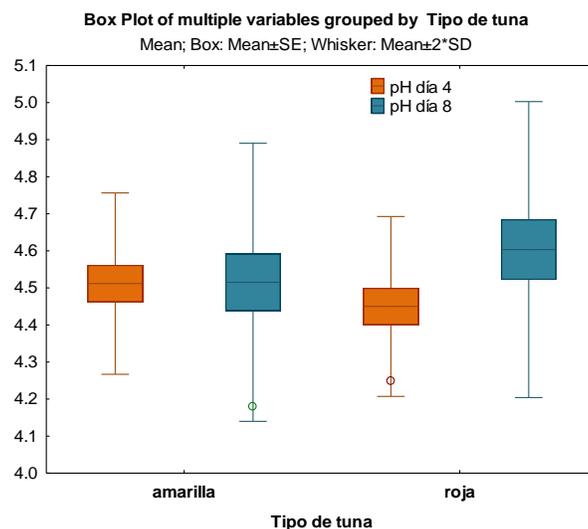


Figura 7

Gráfico de cajas para la variable acidez titulable según el factor A

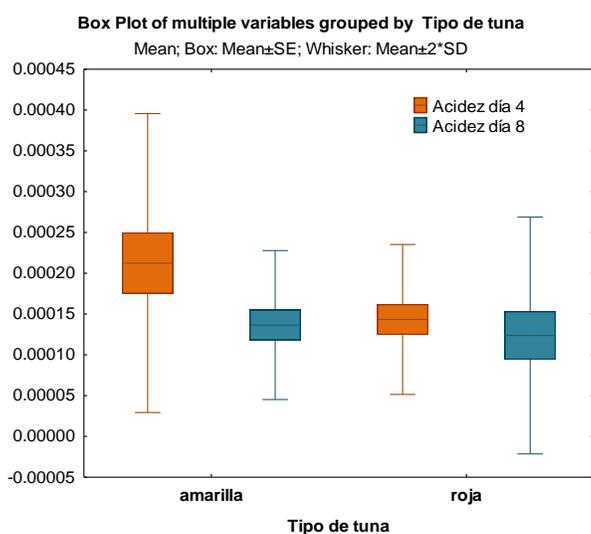
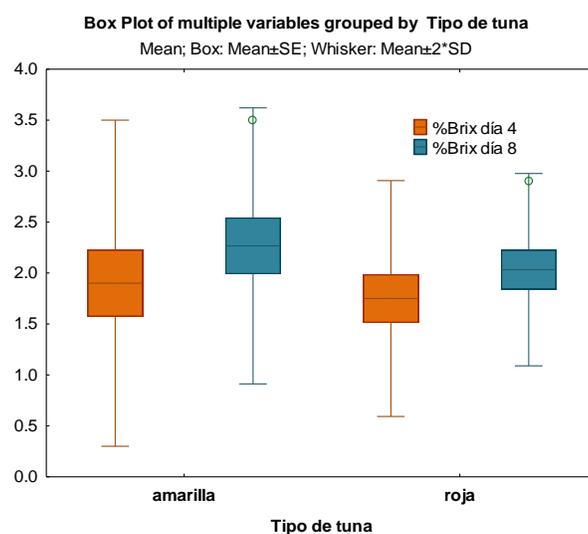
**Figura 8**

Gráfico de cajas para la variable sólidos solubles %Brix según el factor A



Conforme a los resultados de la prueba Tukey para el factor A (tipos de tuna), se puede evidenciar en la figura 5, que para la variable porcentaje pérdida de peso, se encontraron dos grupos significativamente diferentes, en el día 4 fue la tuna roja la que presentó la media más alta (1.087 %pp), seguido de la tuna amarilla (0.203 %pp). En cambio, en el día 8 de la bioconservación es la tuna amarilla la que tiene la media con el valor más alto (2.49 %pp).

Para la variable acidez titulable, se muestran dos grupos significativamente diferentes en ambos días de bioconservación, siendo la tuna amarilla la que tiene las medias más altas, 0.000212 para el día 4 y 0.000137 en el día 8, tal y como se muestra en los diagramas de cajas de la figura 7.

En la tabla 24, así como en las figuras 6 y 8, se evidencia que en las variables de pH y %Brix, las medias se mantienen similares, por lo tanto, no hay diferencias significativas y solo se identifica un solo grupo estadístico en ambos tipos de tuna.

Pruebas de significancia Tukey para el Factor B (variedades de tomate)

Tabla 26

Resultados de la prueba de significancia Tukey para el factor B (variedades de tomate) en las variables fisicoquímicas

Factor B	%pp		pH		Acidez titulable		%Brix	
	Día 4	Día 8	Día 4	Día 8	Día 4	Día 8	Día 4	Día 8
Riñon	0.223 ^B	0.476 ^C	4.572 ^A	4.623 ^A	0.000134 ^B	0.000129 ^B	1.05 ^C	1.73 ^B
Cherry redondo	1.682 ^A	3.719 ^A	4.393 ^A	4.410 ^A	0.000265 ^A	0.000195 ^A	1.93 ^B	1.98 ^B
Cherry pera	0.032 ^C	1.911 ^B	4.478 ^A	4.645 ^A	0.000134 ^B	0.000067 ^C	2.50 ^A	2.75 ^A

Figura 9

Gráfico de cajas para la variable porcentaje pérdida de peso %pp según el factor B

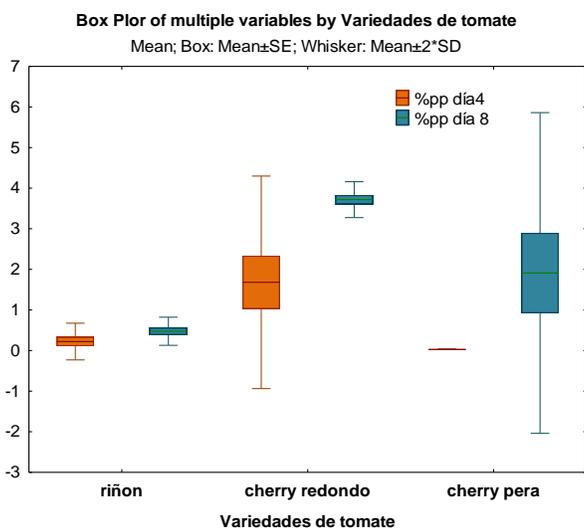


Figura 10

Gráfico de cajas para la variable pH según el factor B

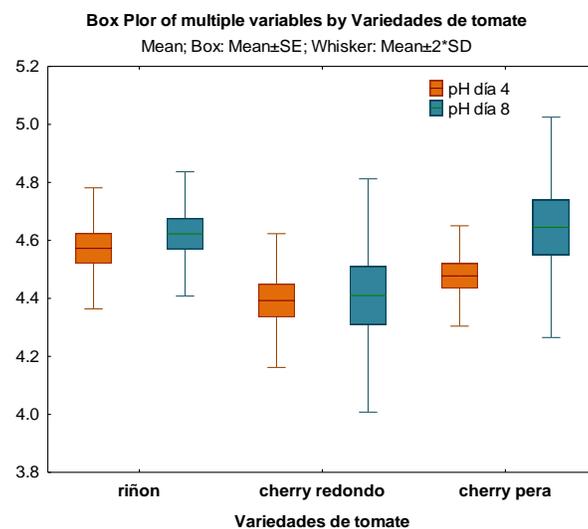


Figura 11

Gráfico de cajas para la variable acidez titulable según el factor B

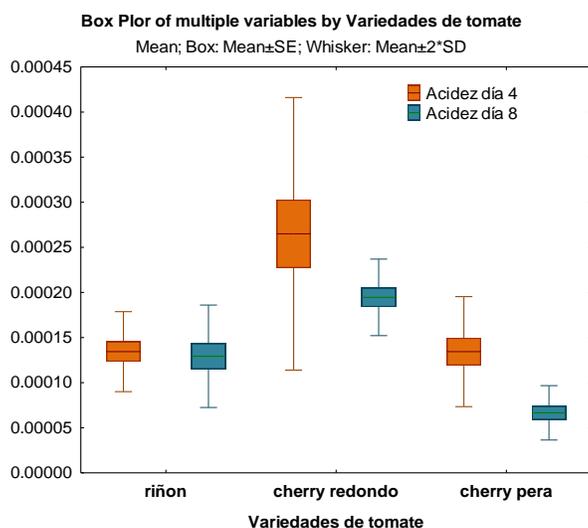
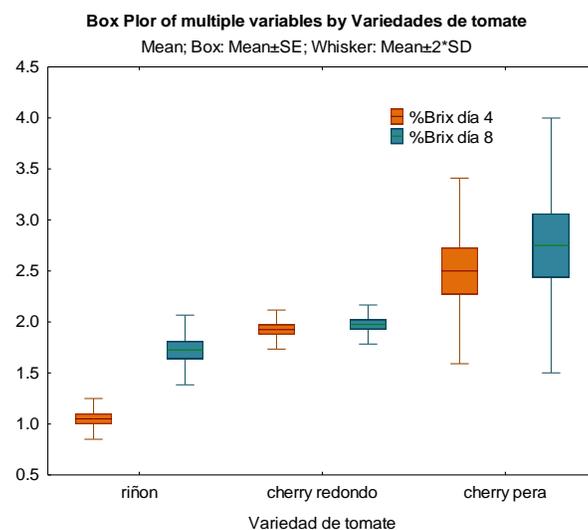
**Figura 12**

Gráfico de cajas para la variable sólidos solubles %Brix según el factor B



Conforme a los resultados de la prueba tukey para el factor B (variedades de tomate), en la variable porcentaje de pérdida de peso (figura 9), se identificaron 3 grupos significativamente diferentes, el tomate cherry redondo tuvo el valor más alto (1.682 %pp), seguido del tomate riñon (0.223 %pp) y tomate cherry pera (0.032 %pp) en el día 4 de bioconservación. Para el día 8, el tomate cherry redondo se mantiene como la variedad con mayor pérdida de peso (3.719 %pp), la siguiente variedad es el tomate cherry pera (0.032 %pp) y por último el tomate riñon (0.476 %pp).

Con respecto al pH (figura 10), las medias de las variedades de tomate no presentan diferencias significativas y constituyen un solo grupo estadístico homogéneo.

Para la variable acidez titulable (figura 11), en el día 4 se identificaron 2 grupos significativamente diferentes, el tomate cherry redondo es la variedad con el valor más alto (0.000265), los tomates riñon y cherry pera presentaron la misma media (0.00134) y por lo tanto

pertenecen al mismo grupo. En el día 8, se identificaron 3 grupos significativamente diferentes y fue el tomate cherry redondo tuvo la acidez más alta (0.00195)

Finalmente, la comparación de medias para la variable contenido de sólidos solubles (figura 12), identificó 3 grupos significativos en el día 4, siendo la variedad de tomate cherry pera la que mayor valor presenta (2.50 %brix), seguido del tomate cherry redondo (1.93 %brix) y finalmente el tomate riñon (1.05 %brix). Al contrario, en el día 8 se identificaron 2 grupos significativos, la variedad cherry pera se mantienen como la de mayor valor (2.75 %brix), seguido por el tomate cherry redondo y riñon con valores de 1.98 %brix y 1.73 %brix, respectivamente.

Pruebas de significancia Tukey para la interacción AB (tipo de tuna con variedades de tomate)

Tabla 27

Resultados de la prueba de significancia Tukey para la interacción AB (tipo de tuna con variedades de tomate) en las variables fisicoquímicas

Interacción	%pp		pH		Acidez titulable		%Brix	
	Día 4	Día 8	Día 4	Día 8	Día 4	Día 8	Día 4	Día 8
a ₀ b ₀	0.028 ^D	0.329 ^D	4.585 ^A	4.610 ^A	0.000147 ^{BC}	0.000154 ^C	1.00 ^A	1.80 ^{AB}
a ₀ b ₁	0.549 ^B	3.528 ^B	4.440 ^A	4.355 ^A	0.000330 ^A	0.000177 ^B	1.95 ^A	1.95 ^{AB}
a ₀ b ₂	0.036 ^D	3.622 ^B	4.510 ^A	4.580 ^A	0.000160 ^{BC}	0.000079 ^E	2.75 ^A	3.05 ^A
a ₁ b ₀	0.418 ^C	0.623 ^C	4.560 ^A	4.635 ^A	0.000122 ^C	0.000105 ^D	1.10 ^A	1.65 ^B
a ₁ b ₁	2.815 ^A	3.911 ^A	4.345 ^A	4.465 ^A	0.000200 ^B	0.000212 ^A	1.90 ^A	2.00 ^{AB}
a ₁ b ₂	0.028 ^D	0.201 ^E	4.445 ^A	4.710 ^A	0.000108 ^C	0.000054 ^F	2.25 ^A	2.45 ^{AB}

Figura 13

Efectos de los tratamientos (interacción AB) sobre el porcentaje de pérdida de peso en el día 4

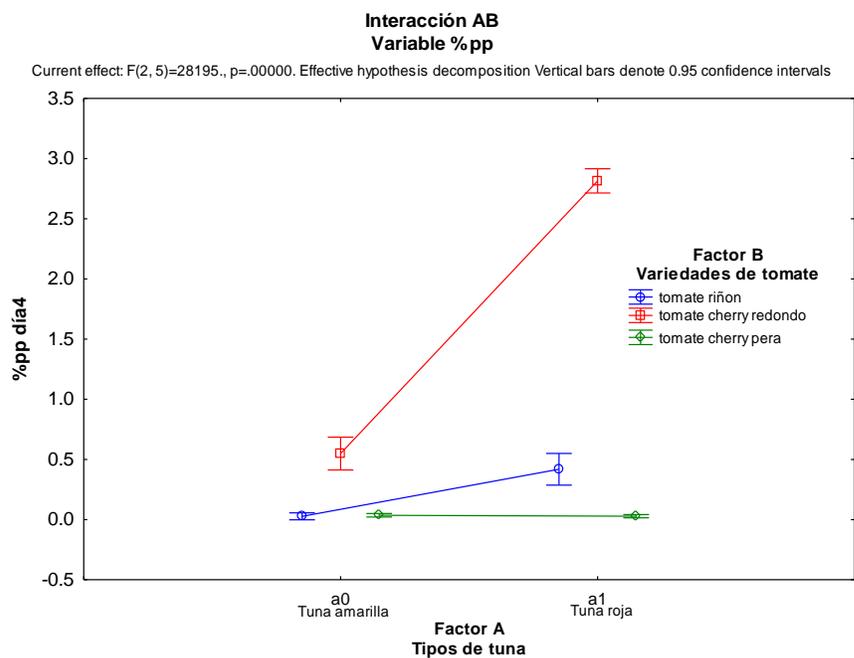
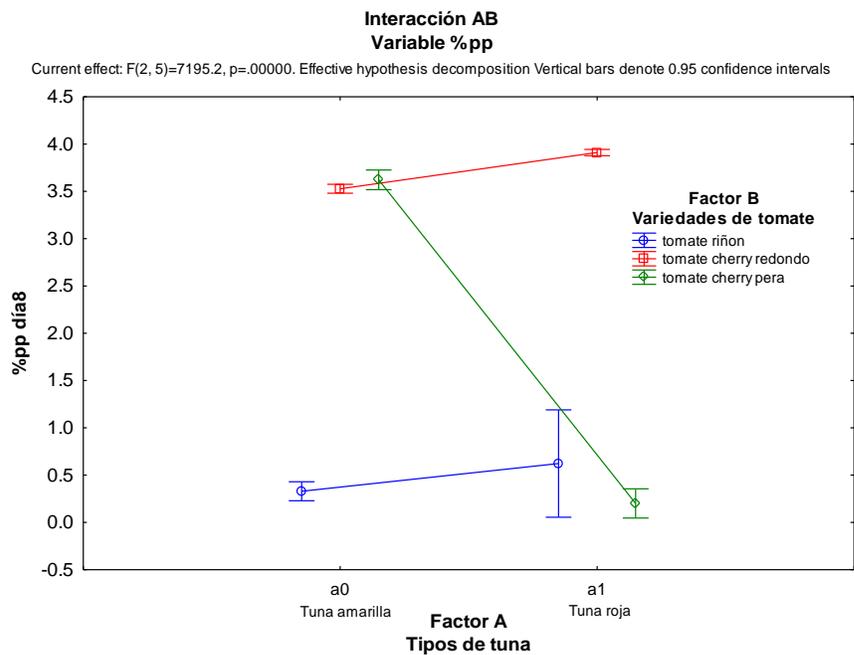


Figura 14

Efectos de los tratamientos (interacción AB) sobre el porcentaje de pérdida de peso en el día 8



Como se observa en la tabla 26, la comparación de medias de la variable porcentaje de pérdida de peso muestra 4 grupos diferentes, siendo la interacción de la tuna roja con el tomate cherry redondo la que presenta la media más alta, 2.815 %pp (figura 13).

En los análisis del día 8, la prueba Tukey mostró 5 grupos significativamente diferentes, y al igual que en el día 4, la interacción de la tuna roja con el tomate cherry redondo es la que tiene los valores más altos, con una media de 3.91 %pp (figura 14).

Figura 15

Efectos de los tratamientos (interacción AB) sobre la variable pH en el día 4

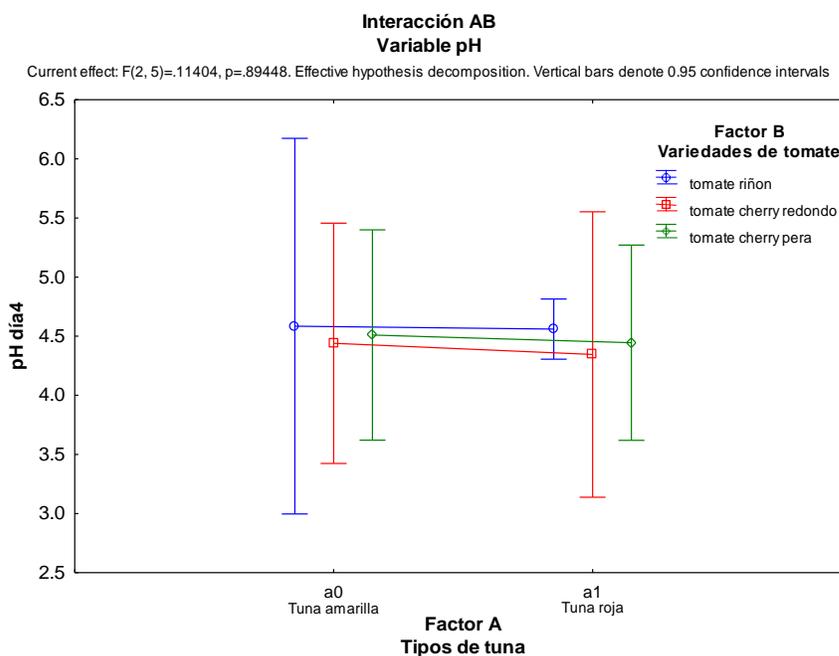
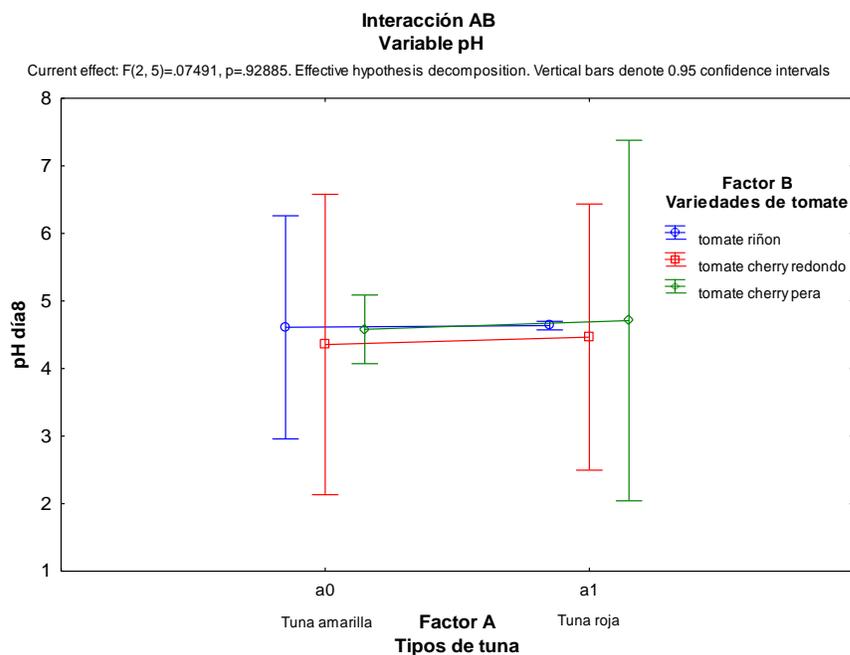


Figura 16

Efectos de los tratamientos (interacción AB) sobre la variable pH en el día 8



Con respecto a la variable pH, la prueba tukey (tabla 26) no mostro diferencias significativas entre las distintas interacciones evaluadas, tanto para el día 4 (figura 15) como en el día 8 (figura 16), los valores de pH resultantes de los tratamientos aplicados correspondientes a las interacciones de los tipos de tuna con las variedades de tomate, tienen valores de medias muy similares.

Figura 17

Efectos de los tratamientos (interacción AB) sobre la variable acidez titulable en el día 4

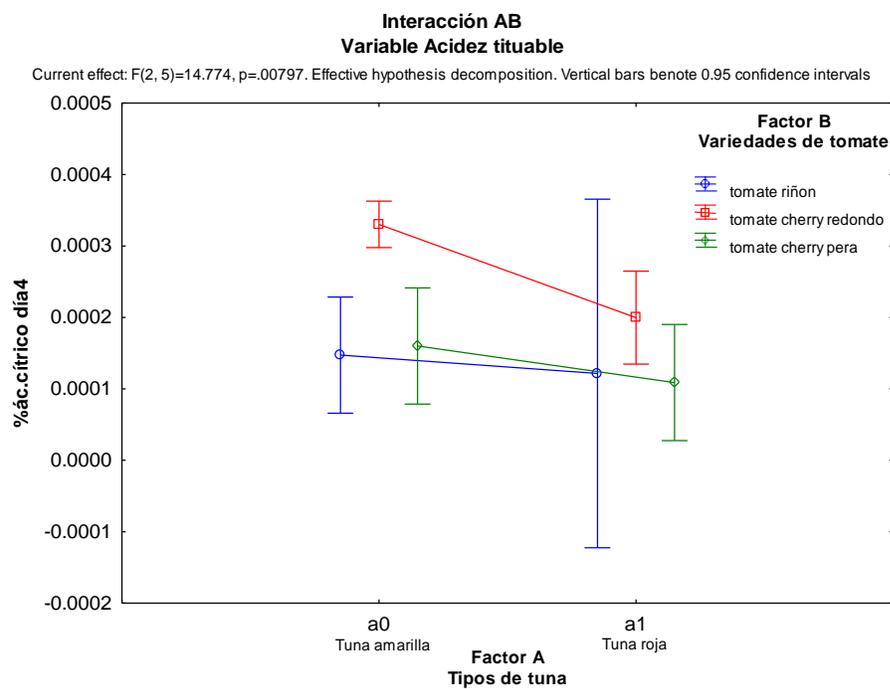
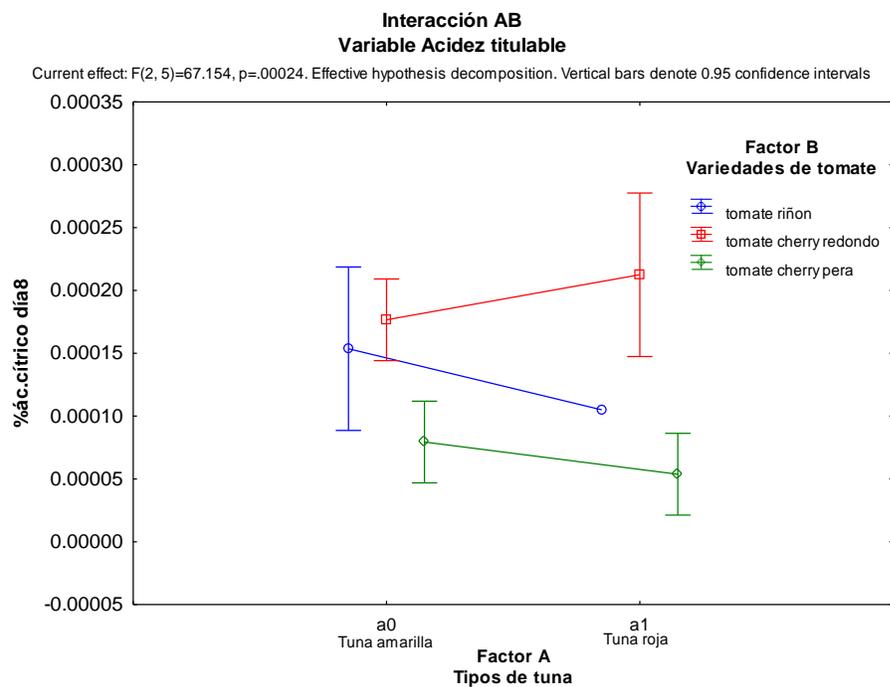


Figura 18

Efectos de los tratamientos (interacción AB) sobre la variable acidez titulable en el día 8



Para los análisis de la variable acidez titulable, en el día 4 la prueba Tukey (tabla 26) identifico 4 grupos significativamente diferentes. La interacción de tuna amarilla con tomate cherry redondo es la que mayor valor de acidez titulable presenta (0.000330), además las interacciones de tuna amarilla con tomate riñón y la tuna amarilla con tomate cherry pera pertenecen a un mismo grupo homogéneo. Las interacciones de tuna roja con tomate riñón y tomate cherry pera son las que menor acidez presentan 0.000122 y 0.000108, respectivamente. En cambio, para el día 8 la prueba tukey de la variable acidez identifico 6 grupos significativamente diferentes, el valor más alto fue de la interacción tuna roja con tomate cherry redondo (0.000212), y el más bajo para la interacción tuna roja con tomate cherry pera (0.000054). En las figuras 16 y 17, se muestran claramente estas diferencias entre las interacciones ya que las líneas están muy dispersas.

Figura 18

Efectos de los tratamientos (interacción AB) sobre la variable sólidos solubles en el día 4 de bioconservación

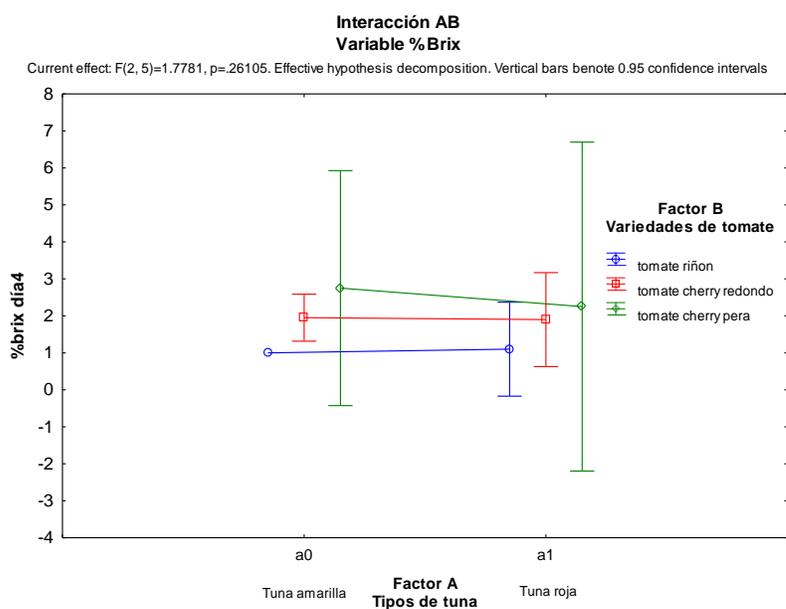
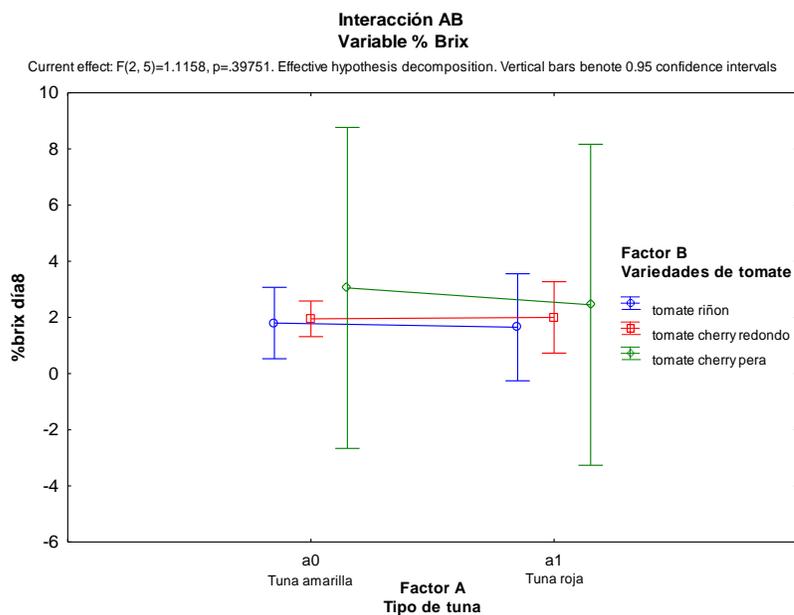


Figura 19

Efectos de los tratamientos (interacción AB) sobre la variable sólidos solubles en el día 8 de bioconservación



En las figuras 18 y 19, se muestra que las interacciones de los tipos de tuna con las variedades de tomate con respecto a la variable contenido de sólidos solubles en los días 4 y 8 de bioconservación. Estos gráficos confirman los resultados de la prueba tukey (tabla 26), que demuestran que no existen diferencias significativas entre los tratamientos aplicados ya que sus medias son muy cercanas.

Análisis de componentes principales

Tabla 28

Matriz de correlación de componentes principales

	%pp día 4	%pp día 8	pH día 4	pH día 8	%Brix día 4	%Brix día 8	Acidez día 4	Acidez día 8
%pp día 4	1.000	0.553	-0.535	-0.310	0.000	-0.218	0.266	0.734
%pp día 8	0.553	1.000	-0.430	-0.507	0.540	0.296	0.672	0.503
pH día 4	-0.535	-0.430	1.000	0.706	-0.359	-0.068	-0.333	-0.305
pH día 8	-0.310	-0.507	0.706	1.000	-0.167	-0.013	-0.645	-0.521
%Brix día 4	0.000	0.540	-0.359	-0.167	1.000	0.892	0.153	-0.317
%Brix día 8	-0.218	0.296	-0.068	-0.013	0.892	1.000	-0.118	-0.466
Acidez día 4	0.266	0.672	-0.333	-0.645	0.153	-0.118	1.000	0.633
Acidez día 8	0.734	0.503	-0.305	-0.521	-0.317	-0.466	0.633	1.000

En la tabla 27 se presenta la matriz de correlación de las componentes principales con las variables físico químicas evaluadas durante los días 4 y 8 de la bioconservación.

De acuerdo, con los valores obtenidos la variable porcentaje de pérdida de peso del día 4 se correlaciona con el porcentaje de pérdida de peso en el día 8 (0.553) y la acidez titulable del día 8 (0.734). Para el día 8 el porcentaje de pérdida de peso se correlaciona con el contenido de sólidos del día 4 (0.540) y la acidez en los días 4 y 8 (0.672 y 0.503). Por otro lado, Para la variable pH, el día 4 se correlaciona con el día 8 (0.706) y la variable %Brix día 4 se correlaciona con el día 8 (0.892).

Además, con la figura 9, podemos notar que las correlaciones más cercanas se encuentran entre las variables porcentaje pérdida de peso con acidez, contenido de sólidos del día 4 con el día 8 y la variable pH del día 4 con el día 8.

Figura 9

Gráfico de componentes

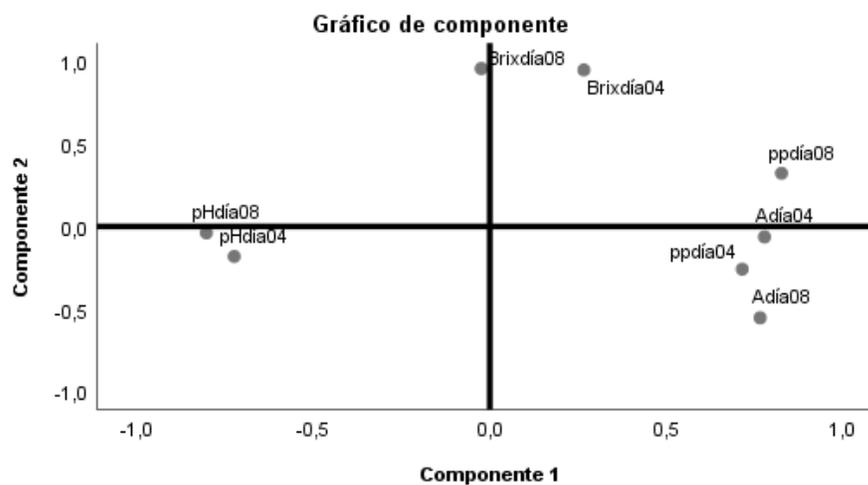
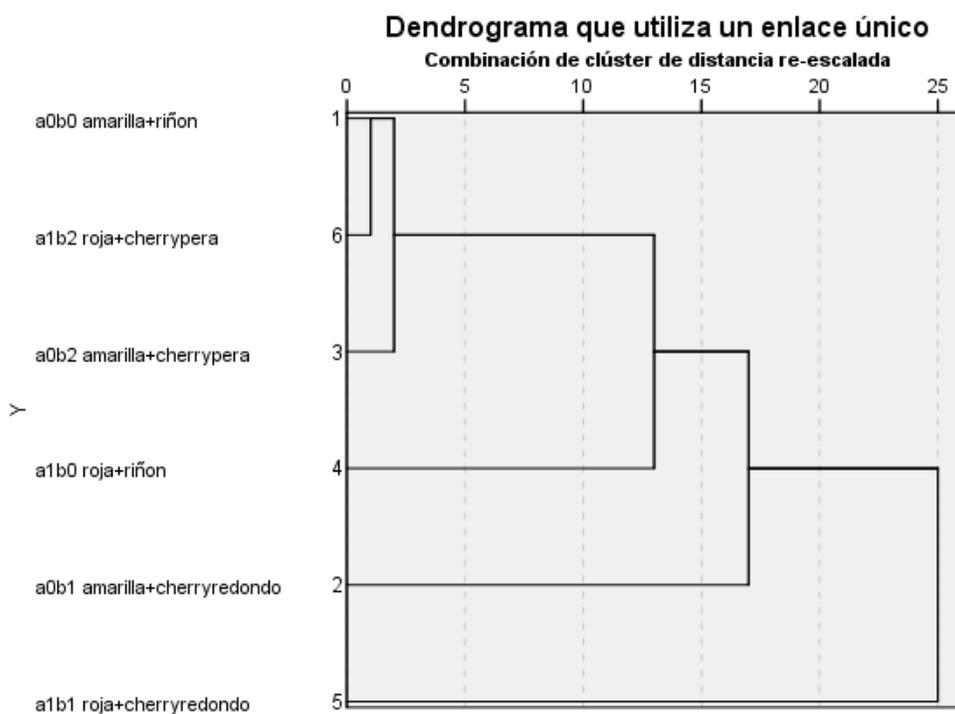
**Análisis de conglomerados**

Figura 10

Dendrograma de los tratamientos aplicados, interacción del tipo de tuna con las variedades de tomate



La figura 10, muestra el dendrograma formado por diferentes conglomerados mediante el método jerárquico de grupos vecinos más cercanos, y se puede observar estrecha similitud entre los tratamientos de tuna amarilla con tomate riñón, tuna roja con tomate cherry pera y tuna amarilla con tomate cherry pera. Por otro lado, el tratamiento más alejado y con menor relación es el de tuna roja con tomate cherry redondo.

Resultados microbiológicos

Los resultados de los análisis microbiológicos se presentan en la tabla 31. Para el día 4 de conservación, se realizó recuento de mohos y levaduras en petrifilm a una disolución 10^{-3} . En cambio, en el día 8 se analizaron aerobios a una disolución 10^{-4} . Además, para este análisis se incluyeron controles donde se analizaron las tres variedades de tomate sin aplicar ningún tipo de solución bacteriana. Como se puede notar, los controles presentan mayor número de unidades formadoras de colonias tanto para mohos, levadura y aerobios en comparación con los tratamientos en los que aplicaron las soluciones bacterianas de las tunas roja y amarilla.

Tabla 29

Resultados de recuentos de mohos y levadura (YM) en el día 4 y aerobios (AC) en el día 8 de bioconservación de los tomates

Tratamiento	Unidad	YM día 4	AC día 8
Tuna amarilla + tomate riñón	UFC/ml	2.5×10^4	2.0×10^5
Tuna amarilla + tomate cherry redondo	UFC/ml	3.2×10^4	2.0×10^4
Tuna amarilla + tomate cherry pera	UFC/ml	8.5×10^4	4.0×10^4
Tuna roja + tomate riñón	UFC/ml	9.9×10^4	9.0×10^4
Tuna roja + tomate cherry redondo	UFC/ml	6.5×10^4	5.4×10^5
Tuna roja + tomate cherry pera	UFC/ml	6.4×10^4	6.0×10^4
Controles			
Tomate riñón	UFC/ml	9.30×10^4	6.60×10^5
Tomate cherry redondo	UFC/ml	1.98×10^5	3.2×10^6
Tomate cherry pera	UFC/ml	2.33×10^5	1.4×10^5

Capítulo V

Discusión

Rendimiento del mosto de tuna

De acuerdo a los resultados obtenidos, se pudo evidenciar rendimientos muy similares (mayores al 30%) para los mostos líquidos extraídos de ambos tipos de tuna, amarilla y roja. Estos porcentajes de rendimiento, coinciden con los reportados en otras investigaciones, como la de (Aquino Bolaños, y otros, 2012) donde evaluaron los componentes de 7 variedades de *Opuntia ssp.*, y obtuvieron rendimientos de pulpa muy variados entre 28.79 hasta 62.94%. En otra investigación, donde únicamente se analizó la especie *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill, se encontraron rendimientos entre 43 a 57% para la pulpa del fruto, sin embargo, dentro de estos valores también se incluyen los rendimientos de las semillas que pueden ser de 2 al 10% (Piga, 2004). Por lo tanto, los rendimientos obtenidos en las tunas analizadas en esta investigación, 38.87% tuna amarilla y 31.51% tuna roja, se encuentran dentro los rangos normales, ya que en el mosto líquido analizado solo se consideran los rendimientos de la pulpa excluyendo por completo a las semillas.

Características fisicoquímicas del mosto de tuna

Los valores de pH obtenidos en los mostos frescos de los dos tipos de tuna estudiadas fueron muy cercanos, tuna amarilla pH=5.98 y tuna roja pH=5.45, estos valores coinciden con los reportados por (Terán, Navas, Petit, Garrido, & D'Aubeterre, 2015), donde el pH de la pulpa de tuna española fue de 5.982 con desviación ± 0.379 . Así mismo, otras investigaciones reportan un pH promedio de 5.04 en el jugo de *Opuntia ficus-indica* (Lemus & Mendoza Ramos, 2011) y rangos de pH desde 5.3 a 7.1 para las pulpas de los frutos de tuna (Piga, 2004).

Por otro lado, la disminución del pH en los mostos es una característica común de los procesos fermentativos, sobre todo en el caso de fermentaciones con presencia de bacterias

ácidos lácticos, que debido a su metabolismo producen ácido láctico y en consecuencia generan disminuciones del pH. (Verón, y otros, 2019) fermentaron el jugo de tuna con *Lactobacillus plantarum* y obtuvieron una disminución de pH de 5.5. a 3.7. Tal y como ocurrió en nuestras fermentaciones donde luego de las 72 horas, el pH de la tuna amarilla disminuyó de 5.98 a 3.46 y de 5.45 a 3.69 en la tuna roja.

Con respecto a la acidez titulable, los porcentajes obtenidos en los dos tipos de tuna y en las dos condiciones del mosto, se encuentran dentro de los requerimientos establecidos en la normativa INEN para las tunas, en la que se establece un % acidez titulable en base al ácido cítrico máxima de 1.08 (INEN, 2009). Además, los valores obtenidos en el mosto fermentado de la tuna roja (0.0576%), son muy cercanos a los promedios reportados por otras investigaciones 0.056% (Lemus & Mendoza Ramos, 2011), 0,012% (Terán, Navas, Petit, Garrido, & D'Aubeterre, 2015) y (Piga, 2004) donde los rangos de acidez se encontraron entre 0.05-0.18.

En lo que respecta al porcentaje de sólidos solubles expresados en %Brix, es un parámetro que varía mucho de acuerdo a las variedades de tuna que se estudien. Por ejemplo, (Aquino Bolaños, y otros, 2012) estudiaron 7 variedades y reportaron valores en un rango de 9.67-14.12 °Brix, en el estudio de otras dos variedades se reportó 13.07 °Bx para la variedad Villanueva y 15.39 para la tuna Cardona (Rodríguez Martínez, 2007), otro estudio en el que solo se analizó el jugo de la tuna *Opuntia ficus-indica* reportó un promedio de 15.67 grados brix (Lemus & Mendoza Ramos, 2011). A pesar de esta gran variabilidad, los valores obtenidos en nuestros dos tipos de tuna se asemejan a los valores reportados por otras investigaciones y además cumplen con la normativa establecida en la INEN donde los °Bx mínimos aceptados son 10 (INEN, 2009). En la presente investigación, los valores obtenidos en los mostos frescos fueron de 13.2 y 12 %, para la tuna amarilla, el valor se mantuvo muy similar luego de la fermentación ya que, los sólidos solubles medidos correspondieron a 13.17%. Al contrario, la tuna roja si

evidenció un cambio de casi la mitad, el valor correspondiente al fermentado fue de 6.67%. Sin embargo, esto se encuentra dentro de la normalidad de acuerdo con las investigaciones de (Verón, y otros, 2019), donde los valores de sólidos solubles típicamente altos encontrados las pulpas de los frutos de tuna, son indicativos de que sus jugos son una buena fuente de azúcares para el desarrollo de microorganismos. Por lo tanto, es común que los valores de sólidos solubles disminuyan durante los procesos de fermentación como indicativos del desarrollo y proliferación de microorganismo (Di Cagno, y otros, 2016).

Características microbiológicas del mosto de tuna

Históricamente, las fermentaciones tradicionales han aprovechado los microorganismos naturalmente presentes en el ambiente, especies vegetales y/o animales para su beneficio, sobre todo en la elaboración de alimentos, atribución de características deseadas y mejoramiento de propiedades funcionales (Tamang, Shin, Jung, & Chae, 2016). Generalmente, el objetivo de los procesos fermentativos es aumentar la proliferación de microorganismos, ya sea, que estos se agreguen externamente como inóculos iniciales o estén presentes desde el inicio de manera autóctona (Ojeda-Linares, I., Vallejo, Lappe-Oliveras, & Casas, 2020). Tal y como se pudo apreciar, con los recuentos obtenidos en las placas petrifilm de los mostos frescos y fermentados, de ambos tipos de tuna, la presencia de microorganismos fue evidente desde el momento cero.

En el caso de la tuna amarilla, la presencia de mohos y levaduras fue relativamente alta y aumento aún más con la fermentación. Al contrario de las bacterias aerobias que disminuyeron un poco en la relación con el conteo inicial.

Para la tuna roja, la presencia de mohos y levaduras en el mosto inicial no fue detectable a la disolución sembrada, sin embargo, luego de las 72 horas de fermentación se

evidenció un gran crecimiento, la presencia de las bacterias aerobias fue evidente desde el mosto fresco y aumentaron luego de la fermentación.

Con estos resultados, podemos afirmar que los mostos de los dos tipos de tuna analizados, amarilla y roja, presentaron microorganismos autóctonos ya que están presentes desde los mostos frescos. Además, la fermentación aplicada permite obtener en ambos tipos de tuna, alta proliferación de mohos y levaduras. Por otro lado, en el caso de los aerobios, la tuna amarilla presento una tendencia de disminución, lo que podría ser una consecuencia de la competencia por nutrientes con los mohos y levaduras, ya que estos últimos crecen en grandes cantidades durante el proceso fermentativo.

Identificación microbiana de las bacterias aisladas en los mostos fermentados de tuna

Los resultados obtenidos a partir de los análisis microbiológicos, bioquímicos y moleculares, confirmaron que las bacterias encontradas en los aislados de los mostos fermentados si corresponden a bacterias ácido lácticas. Cada tipo de tuna estudiado presentó una especie diferente de bacteria, en mosto fermentado de tuna amarilla la BAL identificada fue *Leuconostoc mesenteroides* y *Leuconostoc pseudomesenteroides* en la tuna roja. Ambas bacterias se encuentran dentro del género *Leuconostoc spp.*, caracterizado por bacterias ácido lácticas mesófilas, heterofermentativas obligadas, de morfología cocoide irregular, grampositivas, inmóviles y catalasa negativa (Holland & Liu, 2011). *Leuconostoc mesenteroides* es una bacteria nativa de las plantas (Schlegel, 1997) y además es muy utilizada en la producción de vegetales fermentados (Gordana R., 2006). Algunas de las características típicas del género *Leuconostoc spp.*, se pudieron distinguir durante los análisis de identificación en nuestras bacterias aisladas. Adicionalmente, en otra investigación sobre el estudio de los jugos fermentados de tuna se encontraron cepas autóctonas de *Leuconostoc mesenteroides* (Di Cagno, y otros, 2016). Por lo tanto, podemos confirmar que en los mostos fermentados de los

dos tipos de tuna *Opuntia ficus-indica* analizados, tuna amarilla y roja, son buenas fuentes para el aislamiento de bacterias ácido lácticas del género *Leuconostoc spp.* Sin embargo, las tunas también pueden ser fuente de especies de BAL beneficiosas como *Lactobacillus*, *Weissella*, *Enterococcus*, entre otras, que se han reportado en otras investigaciones (Verón, Di Risio, Isla, & Torres, 2017).

Bioconservación de las variedades de tomate

Los tomates son una hortaliza climatérica, es decir, son muy vulnerable a rápidos procesos de maduración debido a su capacidad para producir etileno, lo que comúnmente afecta el manejo postcosecha, ya que durante la maduración se pueden desarrollar reacciones bioquímicas que desencadenan cambios fisiológicos que impactan negativamente en la calidad y tiempo de vida útil (Ramírez, y otros, 2004). Otro aspecto importante a considerar es que el tomate, al igual que otras especies vegetales, puede alterar sus características de acuerdo con la variedad, zona de producción y sobre todo las condiciones a las que se someten (FAO, 2007).

El análisis de variables como porcentaje de pérdida de peso, pH, acidez y sólidos solubles, permiten evaluar la calidad del tomate durante su almacenamiento. En lo que respecta al porcentaje de pérdida de peso obtenido en este estudio, los resultados demuestran que la variedad de tomate cherry redondo fue la que presentó valores más altos en ambos días de conservación. Además, los tratamientos en los que se aplicó las BAL de tuna roja mostraron medias más altas, y como es de esperarse, la combinación de tuna roja con tomate cherry redondo fue la que más porcentaje de pérdida de peso presentó en los días 4 y 8, con valores de 2.81 %pp y 3.91 %pp, respectivamente. La pérdida de peso se considera una consecuencia de los procesos de transpiración que realizan los tomates durante su almacenamiento y se la puede considerar como una característica indicadora para la pérdida de calidad, ya que la disminución del contenido de agua desencadena daños en la integridad física de la hortaliza y por ende de su

calidad (Hernández Yépez, 2013). Por esa razón, elegimos a la interacción de la tuna amarilla con el tomate riñón como el tratamiento más favorable, debido a que genera el menor porcentaje de pérdida de peso durante los 8 días de conservación de tomate.

Con respecto a la variable pH, no se presentaron diferencias significativas en ninguno de los días de bioconservación. El pH promedio obtenido fue de 4.57, estos valores coinciden con otras investigaciones donde se reporta que usualmente el tomate presenta valores de pH comprendidos entre 4.15 a 4.80 (Ordoñez Santos, 2006). Sin embargo, cuando los tiempos de conservación son extensos hay una tendencia de aumento de los valores de pH, incluso hasta alcanzar valores neutros que los hacen más susceptibles a ataques microbianos (Hernández Yépez, 2013). A pesar de que no se presentaron diferencias significativas, los tratamientos que reportaron valores de pH más bajos fueron: solución BAL de tuna roja + tomate cherry redondo (pH = 4.34) y tuna amarilla + tomate cherry redondo (pH=4.53).

En lo que respecta a la acidez titulable, si se detectaron diferencias significativas en los dos días de conservación y para los factores A, B y sus interacciones. El tratamiento de la tuna amarilla + el tomate cherry redondo fue el que mayores valores de acidez presentó en el día 4 (0.000330 g ác. cítrico/1000 cm³). En cambio, para el día 8 la acidez más alta estuvo presente en el tratamiento de la tuna roja con el tomate cherry redondo (0.000212 g ác. cítrico/1000 cm³). Comparando los dos días de conservación, se notó una tendencia general de disminución de la acidez conforme aumentaban los días de conservación, esto se explica como un cambio metabólico natural durante el almacenamiento de productos hortofrutícolas, ya que en estas condiciones los ácidos orgánicos muestran tendencia a convertirse en azúcares (Hernández Yépez, 2013). Otro, aspecto importante a considerar en el parámetro de la acidez, es que varía mucho de acuerdo a la variedad que se analiza (Ordoñez Santos, 2006). Esta característica, pudo evidenciarse en nuestros datos, ya que, en ambos días de control, la acidez fue

significativamente diferente para el factor B (variedades de tomate), y fue la variedad tomate cherry redondo la que reporto valores de acidez titulable más altos 0.00025 en día 4 y 0.000195 para el día 8.

El contenido de sólidos solubles también puede ser muy variado, dependiendo de la variedad y etapa de madurez de la hortaliza durante su cosecha. Generalmente, se consideran a los sólidos solubles, expresados en grados brix, como un parámetro que permite estimar la madurez de los tomates. Otras investigaciones han reportado que durante la maduración del tomate se producen pequeños aumentos en los valores de los sólidos solubles, hay una tendencia de fase de incremento durante los primeros días de almacenamiento, luego se producen descensos debido a que, una vez alcanzada la madurez, los tomates empiezan a transpirar en mayor cantidad lo que desencadena el consumo de más azúcares y por ende la disminución de °Brix (Hernández Yépez, 2013). Con los datos obtenidos, podemos confirmar un patrón de aumento en el contenido de los sólidos solubles durante los 8 días de conservación, ya que los valores de sólidos solubles obtenidos en el día 8 fueron mayores a los del día 4. Además, las variedades de tomate sí influyen significativamente en el contenido de los sólidos solubles, siendo el tomate cherry para el que reporta valores más altos, 2.5 %Brix para el día 4 y 2.75 %Brix en el día 8.

Por otro lado, los recuentos microbiológicos mostraron que los aerobios, mohos y levaduras tienen mayor crecimiento en los tomates a las cuales no se les aplicó ninguna solución bacteriana. Los tratamientos de tuna roja presentaron menor crecimiento que los grupos control, pero mayor en comparación con los de tuna amarilla. La interacción de tuna roja con tomate cherry redondo fue la que mayor crecimiento de aerobios obtuvo, en cambio, para mohos y levaduras, hubo mayor crecimiento en la interacción de tuna roja con tomate riñón. Las poblaciones microbianas de aerobios, mohos y levaduras normalmente se incrementan durante

el almacenamiento de tomates, las aplicaciones de tratamientos ayudan a controlar las contaminaciones microbianas haciendo más lenta la propagación de estos microorganismos y por ende, extendiendo la vida útil del producto (Hernández Yépez, 2013).

En definitiva, los resultados obtenidos nos indican que la aplicación de las soluciones bacterianas si influye en los cambios físicos, químicos y microbiológicos de los tomates durante su conservación, sobre todo los tratamientos con la solución BAL de la tuna amarilla, es decir *Leuconostoc mesenteroides*, esta bacteria ya ha reportado buenos resultados en estudios de actividad antimicrobiana, atribución sensorial y mantenimiento de la integridad de productos alimenticios (Di Cagno, y otros, 2016). Sin embargo, como se pudo notar las variedades de tomate también influyen en las variables y por ello, en algunas ocasiones la combinación de la tuna roja con ciertas variedades es la que genera mejores respuestas, recordemos que las dos bacterias aisladas comparten el mismo género y por ende muchas características metabólicas.

Finalmente, de acuerdo con los resultados físico químicos y microbiológicos analizados, el tratamiento de la solución bacteriana obtenida de la tuna amarilla en combinación con la variedad de tomate riñón, es la que mejores resultados de bioconservación presenta.

Capítulo VI

Conclusiones

El rendimiento de los mostos obtenidos a partir de dos tipos de tuna *Opuntia ficus indica*, fueron similares, sin embargo, fue la tuna amarilla la que obtuvo mayor porcentaje de rendimiento 38.87%.

Con respecto a las variables fisicoquímicas evaluadas en los dos tipos de tuna, antes y después de la fermentación, permitió identificar que el pH del mosto fresco tiene valores más altos en comparación con los del mosto fermentado, así mismo, los porcentajes de acidez titulable aumentaron con la fermentación, a diferencia del contenido de sólidos solubles que disminuyó. Además, los análisis microbiológicos mostraron que la fermentación beneficia el crecimiento y proliferación de mohos, levaduras y aerobios.

Los procesos de fermentación discontinua de los mostos obtenidos de la los frutos de tuna, permiten el aislamiento de bacterias autóctonas. En nuestra investigación los dos tipos de tuna permitieron el aislamiento dos especies de bacterias ácido lácticas, pertenecientes al mismo género. A partir de la tuna amarilla, se aisló a la bacteria *Leuconostoc mesenteroides* y *Leuconostoc pseudomesenteroides* de la tuna roja. Por lo tanto, concluimos que el tipo de tuna influye sobre la especie bacteriana aislada.

En lo que respecta a la bioconservación de los tomates, podemos concluir que el tipo de tuna si influye sobre la bioconservación de los tomates, ya que la solución bacteriana del tipo de tuna amarilla, *Leuconostoc mesenteroides* fue la que presento mejores efectos sobre la variables físico químicas y microbiológicas analizadas en los tomates durante 8 días de bioconservación. También, concluimos que las variedades de tomate estudiadas sí influyen sobre las variables físico químicas y microbiológicas durante la conservación, ya que los análisis de pérdida de peso,

acidez titulable y contenido de sólidos solubles difirieron significativamente entre las variedades de tomate.

Por último, concluimos que los tratamientos aplicados, resultantes de las interacciones entre los tipos de tuna y las variedades de tomate, sí influyen en los resultados de la bioconservación, y es la interacción entre la tuna amarilla con el tomate riñón el tratamiento que mejor efecto de bioconservación presenta, ya que a los 8 días de conservación el porcentaje de pérdida de peso fue de 0.329%, se obtuvo un pH de 4.610, una acidez titulable 0.000154% ác. cítrico y un valor de 1.80% Brix.

Recomendaciones

Referente a la utilización de los tipos de tuna, se recomienda la utilización del tipo de tuna amarilla, ya que es la que mejor valor de rendimiento reporta, además presenta valores de pH, acidez, sólidos solubles y contenidos microbianos beneficiosos.

Con respecto, al aislamiento de bacterias ácido lácticas, se recomienda la aplicación de fermentaciones por método discontinuo, porque benefician a la proliferación de los microorganismos autóctonos de interés que están presentes en el mosto de tuna. De acuerdo, con los resultados de esta investigación, se recomienda la fermentación de la tuna amarilla porque permite el aislamiento de *Leuconostoc mesenteroides*, una especie de bacteria ácido láctica, que tiene múltiples beneficios en la fermentación de alimentos.

Según los resultados obtenidos en esta investigación, se recomienda la aplicación de soluciones bacterianas obtenidas de la BAL *Leuconostoc mesenteroides* aislada a partir del mosto fermentado de tuna amarilla, en especial en interacción con tomates de la variedad riñón, ya que es el tratamiento que mejores características fisicoquímicas y microbiológicas presentaron durante los 8 días de bioconservación.

Capítulo VII

Bibliografía

3M Microbiology. (2003). *3M Petrifilm. Guía de Interpretación*. Obtenido de https://jornades.uab.cat/workshopmrama/sites/jornades.uab.cat/workshopmrama/files/Petrifilm_guias.pdf

Aquino Bolaños, E. N., Chavarría Moctezuma, Y., Chávez Servia, J. L., Guzmán Gerónimo, R. I., Silvia Hernández, E. R., & Verdalet Guzmán, I. (2012). Caracterización físico química de siete variedades de tuna (*Opuntia* spp.) color rojo-violeta y estabilidad del pigmento de las dos variedades con mayor concentración. *Investigación y Ciencia*, 20(55), 3-10. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/674/67424409001.pdf>

B&G . (2015). *Actualización del diagnóstico del PDOT de la parroquia Luz de América*. Obtenido de B&G Consultores Asociados: <https://odsterritorioecuador.ec/wp-content/uploads/2019/04/PDOT-PARROQUIA-LUZ-DE-AMERICA-2015-2020.pdf>

Baudoin, A. (2017). *Manual Técnico de Producción de Tomate con Enfoque de Buenas Prácticas Agrícolas*. La Paz, Bolivia: Ministerio de Desarrollo Rural y Tierras.

Cañaveral Sánchez, I., Chalarca Vélez, J. R., & Gaviria Arias, D. (2020). Bacteriocinas: visión básica y aplicada. *Alimentos, Ciencia e Ingeniería*, 27(2), 7-33. Obtenido de <https://revistas.uta.edu.ec/erevista/index.php/aci/article/view/938/1090>

Collins, C., Lyne, P. M., Grange, J., & Falkinham III, J. (2004). *Microbiological Methods. Eighth Edition*. London: Arnold .

Cortés-Sánchez, A. D., Díaz-Ramírez, M., & Salgado-Cruz, M. D. (2018). Bioconservación, alimentos y pescado. *Agroproductividad*, 11-16. Obtenido de <https://doi.org/10.32854/agrop.v11i11.1276>

Di Cagno, R., Filannino, P., Vincentini, O., Lanera, A., Cavoski, I., & Gobbetti, M. (2016). Exploitation of *Leuconostoc mesenteroides* strains to improve shelf life rheological, sensory and functional features of prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L.) fruit puree. *Food Microbiology*, 59, 176-189. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2016.06.009>

Escalona Contreras, V. H., Correa San Martín, J., & González Olivares, A. (2019). *MANEJO POSTCOSECHA DE TOMATES Y PIMIENTOS FRESCOS Y DE IV GAMA*. Santiago de Chile, Chile: Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agronómicas. Obtenido de <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/175675/Manejo-postcosecha-de-tomates-y-pimientos-fresco.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

ESPE. (2022). *ESPE Sede Santo Domingo*. Obtenido de Universidad de las fuerzas Armadas, ESPE. SEDE SANTO DOMINGO: <https://santodomingo.espe.edu.ec/contactos/>

FAO. (2007). *Manual de manejo postcosecha de frutas tropicales*. Obtenido de <https://www.fao.org/3/ac304s/ac304s.pdf>

FAO. (2014). *Fichas técnicas. Productos frescos de frutas*. Obtenido de <https://www.fao.org/3/au173s/au173s.pdf>

FAO. (2018). *Ecología del cultivo, manejo y usos del Nopal*. Chile.

Fornaris, G. J. (2007). Variedades y su selección. En *Conjunto Tecnológico para la Producción de Tomate de Ensalada*. Mayagüez, Puerto Rico. Obtenido de <https://www.uprm.edu/eea/wp-content/uploads/sites/177/2016/04/TOMATE-Variedades-y-su-Selecci%C3%B3n-v2007.pdf>

Gaspar Lasanta, P. (2013). *El tomate*. Obtenido de <https://zaguan.unizar.es/record/10535/files/TAZ-PFC-2013-233.pdf>

Google Earth. (2022). *Universidad de las fuerzas armadas ESPE Santo Domingo*. Obtenido de Google Earth:

https://earth.google.com/web/search/Universidad+de+las+Fuerzas+Armadas+-+ESPE+-+Santo+Domingo,+Santo+Domingo/@-0.4127086,-79.3094716,293.86223732a,954.00435976d,35y,-0h,0t,0r/data=CigiJgokCQSRdu8XdyBAEcQrftlJdT3AGY-5N6XZSSrAIUpqiDLedF_A

Gordana R., D. (2006). Characteristics of the *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* strains from fresh vegetables. Obtenido de <http://www.doiserbia.nb.rs/img/doi/1450-7188/2006/1450-71880637003D.pdf>

Guerrero Rodríguez, J. L. (2018). *Diseño del proceso industrial para la obtención de vino a base de tuna (Opuntia ficus-indica), para la empresa vita tuna*. Obtenido de <http://dspace.esoch.edu.ec/bitstream/123456789/8984/1/96T00474.pdf>

Hernández Yépez, J. N. (2013). *Caracterización físico-química y microbiológica del tomate margariteño (Lycopersicon esculentum var. España) y evaluación de la efectividad de tratamiento pre-ensado para el incremento de su vida comercial a temperatura ambiente*. Obtenido de <https://helvia.uco.es/xmlui/bitstream/handle/10396/9925/2013000000724.pdf?sequence=1>

Holland, R., & Liu, S.-Q. (2011). *Leuconostoc* spp. En J. Fuquay W., *Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition)* (págs. 138-142). doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00267-3>

INEN. (1985). *INEN 381*. Obtenido de Conservas vegetales. Determinación de acidez titulable. Método potenciométrico de referencia: <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/381.pdf>

INEN. (1985). *INEN 389*. Obtenido de Conservas Vegetales. Determinación de la concentración del ion hidrógeno (pH): <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/389.pdf>

INEN. (1985). *NTE INEN 380*. Obtenido de Conservas vegetales. Determinación de sólidos solubles. Método refractométrico:

<https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/380.pdf>

INEN. (1992). *Bebidas alcoholicas. Definiciones*. Obtenido de https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/NTE_INEN_338.pdf

INEN. (2009). *NTE INEN 1 978:2009*. Obtenido de FRUTAS FRESCAS. TUNA. REQUISITOS: <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/1978.pdf>

INEN. (2013). *NTE INEN 2832*. Obtenido de NORMA PARA EL TOMATE (CODEX STAN 293-2007, MOD): https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_2832.pdf

Ingledeew, W., & Lin, Y.-H. (2011). Industrial Biotechnology and Commodity Products. En M. Moo-Young, *Comprehensive Biotechnology* (págs. 37-49). El sevier.

Jiménez Fernández, E. E. (2014). *Obtención del mucílago de la cáscara de la tuna (Opuntia ficus-indica) a partir de diferentes métodos de extracción*. Obtenido de <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/130028/Obtencion-del-mucilago-de-la-cascara-de-la-tuna.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Jurado-Gámez, H., Jarrín-Jarrín, V., & Bustamante-Melo, J. (2017). Efecto bioconservante del sobrenadante de *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus lactis* en lomo de cerdo (*Longissimus dorsi*). *Revista de Medicina Veterinaria*, 1(35), 159-173. Obtenido de <https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1297&context=mv>

Leboffe, M. J., & Pierce, B. E. (2011). *A Photographic Atlas for the Microbiology Laboratory 4th Edition*. Colorado: Morton Publishing Company.

Lemus, K. S., & Mendoza Ramos, A. M. (2011). *Evaluación de las características nutricionales y fisicoquímicas del jugo del fruto de Opuntia ficus-indica (TUNA)*. Obtenido de https://ri.ues.edu.sv/id/eprint/2437/1/TRABAJO_DE_GRADUACION_GRUPO_38-10.pdf

López Marín, L. M. (2017). *Manejo técnico del cultivo de tomate Solanum lycopersicum*. San José, Costa Rica. Obtenido de <https://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/F01-10921.pdf>

Lugo-Zarate, L., Cruz-Casino, N. d., Cervantes-Elizarrarás, A., Delgado-Olivares, L., Ariza-Ortega, J. A., & Zafra-Rojas, Q. Y. (2021). Bacterias ácido lácticas de bebidas vegetales fermentadas: Producción de metabolitos y propiedades antimicrobianas. *Educación y Salud*, 9(18), 175-186. Obtenido de https://pdfs.semanticscholar.org/ef2c/7a070d0186e6dd8ead533135c3b95952deda.pdf?_ga=2.76291925.1751397946.1658707258-1280652810.1658102996

Marin, J. M. (2021). *Modelo de diseños factoriales y diseños 2k*. Obtenido de <http://halweb.uc3m.es/esp/Personal/personas/jmmarin/esp/Disenno/tema3DE.pdf>

NCBI. (2022). *National Center for Biotechnology Information*. Obtenido de Basic Local Alignment Search Tool: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

Ojeda-Linares, I., C., Vallejo, M., Lappe-Oliveras, P., & Casas, A. (2020). Traditional management of microorganisms in fermented beverages from cactus fruits in Mexico: an ethnobiological approach. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 16(1). doi:<https://doi.org/10.1186%2Fs13002-019-0351-y>

Olivera Rodi, J. (2018). *Selección de bacterias ácido lácticas (LAB) y adjuntas (NSLAB) autóctonas de la leche y queso, para el control de Clostridium spp. responsables del defecto de "hinzhacón tardía"*. Obtenido de <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/21466/1/uy24-19245.pdf>

Ordoñez Santos, L. E. (2006). *Estudio comparativo de las características físico-químicas, nutricionales y microcópicas de tomate (Lycopersicum esculentum Mill.) procedente de cultivo ecológico y convencional, en fresco y tras la obtención de triturados*. Obtenido de <https://minerva.usc.es/xmlui/bitstream/handle/10347/9673/b20101405.pdf?sequence=1>

Parra Huertas, R. A. (2010). Review. Bacterias ácido lácticas: Papel funciona en los alimentos. *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 8(1), 93-105. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v8n1/v8n1a12.pdf>

Piga, A. (2004). Cactus Pear: a fruit of nutraceutical and functional importance. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/33679503_Cactus_Pear_a_Fruit_of_nutraceutical_and_functional_importance

Prasad, K., Sharma, R., Sethi, S., & Srivastav, M. (2019). Influence of harvesting method on postharvest loss, shelf-life and quality of mango (*Mangifera indica*) fruits. *Indian Journal of Agriculture Sciences*, 445-449. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/332289896_Influence_of_harvesting_method_on_postharvest_loss_shelf-life_and_quality_of_mango_Mangifera_indica_fruits

Ramírez Ramírez, J. C., Rosas Ulloa, P., Velázquez González, M. Y., Ulloa, J. A., & Arce Romero, F. (2011). Bacterias lácticas: Importancia en alimentos y sus efectos en la salud. *Fuente*. Obtenido de <http://fuente.uan.edu.mx/publicaciones/03-07/1.pdf>

Ramírez, H., Encina-Rodríguez, L. I., Benavides-Mendoza, A., Robledo-Torres, V., Hernández-Dávila, J., & Alonso-Corona, S. (2004). Influencia de la temperatura sobre procesos fisiológicos en Postcosecha de Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Revista Agraria -Nueva Epoca-*. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/239532655_Influencia_de_la_Temperatura_sobre_Prosesos_Fisiologicos_en_Postcosecha_de_Tomate_Lycopersicon_esculentum_Mill

Reyes-Agüero, J. A., Aguirre-Rivera, J. R., & M. Hernández, H. (2005). NOTAS SISTEMÁTICAS Y UNA DESCRIPCIÓN DETALLADAS DE *Opuntia ficus-indica* (L.) MILL.

(CACTACEAE). *Agrociencia*, 39, 395-408. Obtenido de

http://www.ibiologia.unam.mx/pdf/directorio/h/hernandez_hec/Opuntia_ficus.pdf

Rodríguez Martínez, V. (2007). *Estudio de las propiedades fisicoquímicas y reológicas de los jugos concentrados de tuna Villanueva (Opuntia ficus-indica) y Cardona (Opuntia streptacantha) y sus cambios debido al almacenamiento*. Obtenido de

http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lia/rodriguez_m_v/capitulo4.pdf

Rodríguez-López, C. M., Guzmán-Beltrán, A. M., Lara-Morales, M. C., Catillo, E., & Brandao, P. F. (2021). Aislamiento e identificación de *Lactobacillus* spp. (Lactobacillaceae) resistentes a Cd(II) y As(III) recuperados de fermento de cacao. *6*(1), 19-29. Obtenido de

<http://www.scielo.org.co/pdf/abc/v26n1/0120-548X-abc-26-01-19.pdf>

Rojas, C., & Vargas, P. (2008). Bacteriocinas: sustituto de preservantes tradicionales en la industria alimentaria. *Tecnología en marcha*, 21(2), 9-16. Obtenido de

https://www.researchgate.net/publication/277151740_Bacteriocinas_sustituto_de_preservantes_tradicionales_en_la_industria_alimentaria

Sáenz, T. A., & Ramos Gorbeña, J. C. (2008). Bacterias ácido lácticas: biopreservante de los alimentos. *Biotempo*, 8, 54-64. Obtenido de

<https://revistas.urp.edu.pe/index.php/Biotempo/article/view/865/781>

Sánchez, L., & Tromps, J. (2014). Caracterización in vitro de bacterias ácido lácticas con potencial probiótico. *Revista de Salud Animal*, 36(2). Obtenido de

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2014000200008

Schlegel, H. G. (1997). *Microbiología general*. Barcelona: OMEGA.

Tamang, J. P., Shin, D.-H., Jung, S.-J., & Chae, S.-W. (2016). Functional Properties of Microorganisms in Fermented Foods. *Frontiers in Microbiology*, 7.

doi:<https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00578>

Terán, Y., Navas, D., Petit, D., Garrido, E., & D'Aubeterre, R. (2015). Análisis de las características físico-químicas del fruto de *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller, cosechados en Lara, Venezuela. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 16(1), 69-74. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/813/81339864010.pdf>

Tropicos. (2022). *Tropicos.org*. Obtenido de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.: <https://www.tropicos.org/name/5100164>

Verón, H. E., Di Risio, D., Isla, M. I., & Torres, S. (2017). Insolation and selection of potential probiotic lactic acid bacteria from *Opuntia ficus-indica* fruits that grow in Northwest Argentina. *Food Science and Technology*, 84, 231-240. doi:10.1016/j.lwt.2017.05.058

Verón, H. E., Gauffin Cano, P., Fabersani, E., Sanz, Y., Isla, M. I., Fernández Espinar, M. T., . . . Torres, S. (2019). Cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) juice fermented with autochthonous *Lactobacillus plantarum* S-811. *Royal Society of Chemistry*. doi:10.1039/c8fo01591k

Zenteno-Ramírez, G., Juárez-Flores, B. I., Aguirre-Rivera, J. R., Ortiz-Pérez, M. D., Zamora-Pedraza, C., & Rendón-Huerta, J. A. (2015). Evaluación de azúcares y fibra soluble en el jugo de variantes de tunas (*Opuntia* spp.). *Agrociencia*, 49(2). Obtenido de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952015000200003