



UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS ESPE

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

TEMA: 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

Autora: Otero Garcia, Josselyn Viviana

Directora: PhD. Sánchez Llaguno, Sungey Naynee

Santo Domingo de los Tsáchilas, Ecuador
2022

INTRODUCCIÓN

Tuna (*Opuntia ficus indica*)

- ❑ Pertenece a la familia *Cactacea*.
- ❑ Es un cultivo versátil, nativo de México, pero se encuentra ampliamente distribuido en el mundo.
- ❑ En Ecuador, se puede encontrar cultivares de esa especie en las provincias de Tungurahua, Imbabura y Loja.
- ❑ Aprovecha zonas áridas y suelos arenosos.

(FAO, 2018)



(Terán, Navas, Petit, Garrido, & D'Aubeterre, 2015)

Sus frutos: se caracterizan por ser una baya de variadas formas, colores y tamaños.

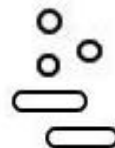
Mucílago: polisacárido complejo con alto contenido de azúcares, fibra, nutrientes, minerales, vitaminas, carotenoides y otros compuestos.

Gran interés para aplicaciones alimenticias, nutricionales, industriales e incluso medicinales.

Fermentación

(Verón, Di Risio, Isla, & Torres, 2017)

Constituye un importante proceso biotecnológico, que se caracteriza por la producción de microorganismos que pueden ser aprovechados para el desarrollo de múltiples objetivos



Bacterias ácido lácticas, BAL

(Ramírez Ramírez, & otros, 2011)

- ❑ Capacidad para producir bacteriocinas, sintetizar metabolitos potencialmente útiles en aplicaciones antimicrobianas.
- ❑ Pueden transformar las características organolépticas de los alimentos

El tomate

- ❑ Es una de las hortalizas que más se cultiva en el mundo.
- ❑ Representa un alto porcentaje de economía agrícola y comercial.
- ❑ Gran diversidad, múltiples variedades, formas, colores y sabores.
- ❑ Altamente susceptible al daño físico, ataque de patógenos y otros factores que aceleran su deterioro.



(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

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

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

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

HIPÓTESIS NULA

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

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

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



METODOLOGÍA

Ubicación del área de investigación

Los estudios se llevaron a cabo en los laboratorios de Bromatología y Microbiología de los alimentos.

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.

Ubicación geográfica

Latitud 00°24'45" S

Longitud 79°18'34" O

Elevación de 294 m sobre el nivel del mar (Google Earth, 2022)

Ubicación ecológica

- Geografía: terrenos alomados y pequeñas planicies
- Zona climática lluviosa tropical húmeda
- Temperatura promedio entre 23 a 24 °C
- Rango altitudinal de 120 a 650 msnm
- Pluviosidad promedio de 3155 mm al año
- Humedad media mensual del 90% (B&G , 2015)



METODOLOGÍA

Obtención de materia prima



La tuna amarilla (pulpa blanca) fue obtenida en el Mercado Cerrado “El Salto” de la ciudad de Latacunga, provincia de Cotopaxi.



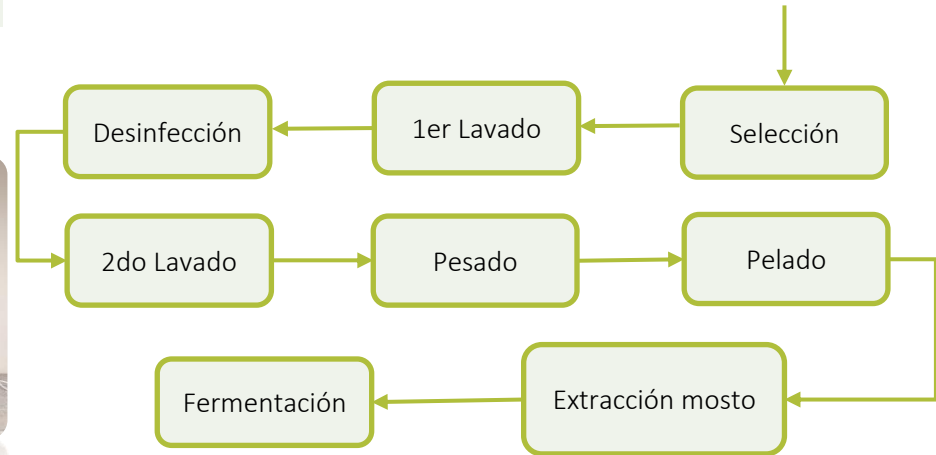
La tuna roja (pulpa anaranjada) fue adquirida en el Mercado Municipal Central, de la ciudad de Santo Domingo.

Las variedades de tomate utilizadas para la bioconservación se adquirieron en los siguientes lugares:

- El tomate cherry redondo se adquirió en el “mi comisariato” del Paseo Shopping Santo Domingo.
- Los tomates riñón y cherry pera, se compraron en el Mercado Municipal Central.



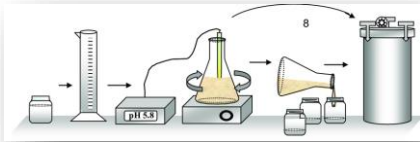
Extracción y fermentación del mosto de tuna



METODOLOGÍA

Aislamiento de las bacterias ácido lácticas

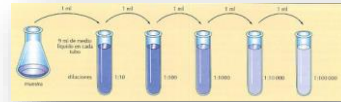
Preparación y esterilización de medios de cultivo



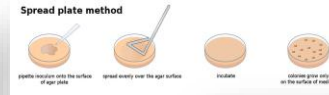
Dispensar medio en caja petri



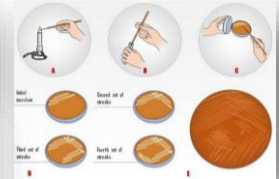
Disoluciones seriadas



Siembra en placa método extensión



Siembra en placa método estrías



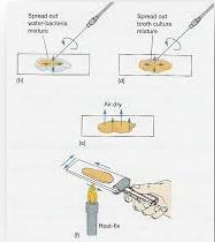
Siembra en petrifilm



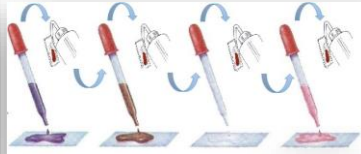
Identificación microbiana

IDENTIFICACIÓN MICROSCÓPICA

Frotis bacteriano



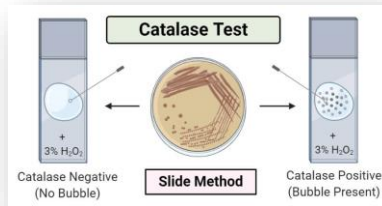
Tinción Gram



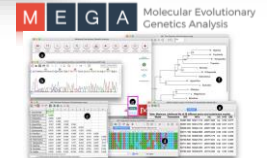
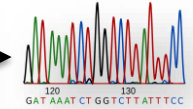
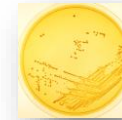
Observación microscopio 100x



IDENTIFICACIÓN BIOQUÍMICA



IDENTIFICACIÓN MOLECULAR



METODOLOGÍA

Solución bacteriana

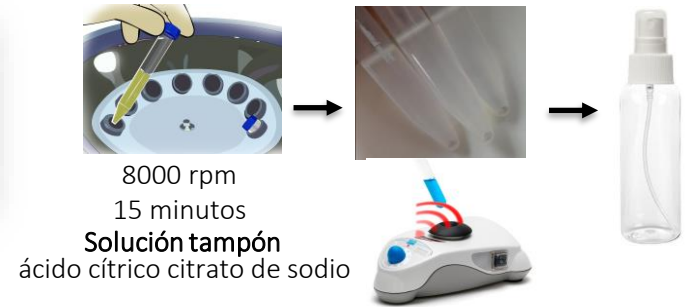
Preparación y esterilización medio líquido



Siembra e incubación



Recuperación células bacterianas



Bioconservación tomates

Variedades de tomate



Lavado



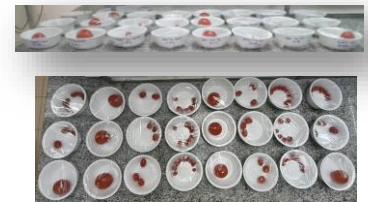
Pesado



Desinfección



Aplicación soluciones bacterianas



METODOLOGÍA

Análisis de variables fisicoquímicas y microbiológicas

A fin de evaluar el efecto bioconservante, se evaluaron las siguientes variables durante los días 4 y 8, en las tres variedades de tomate

Porcentaje de pérdida de peso (%pp)

(Prasad, Sharma, Sethi, & Srivastav, 2019)

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

Concentración del ion hidrógeno (pH)

(INEN, 1985)

Normativa **INEN 389**

Método potenciométrico



Acidez titulable

(INEN, 1985)

Normativa **INEN 381**

Hidróxido de sodio NaOH

Método potenciométrico



Sólidos solubles (%Brix)

(INEN, 1985)

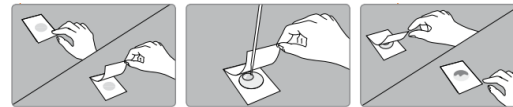
Normativa **INEN 380**

Método refractométrico



Análisis de aerobios, mohos y levaduras

(3M Microbiology, 2003)



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

METODOLOGÍA

Diseño experimental

Tipo de diseño

La investigación se desarrolló en base a un diseño factorial con dos factores y 2 repeticiones.

Factores y niveles

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

Análisis estadístico

- ANOVA con un nivel de significancia $\alpha=0.05$, para cada variable físico química estudiada.
- Test de comparación mediante el método Tukey ($p<0.05$) a fin de encontrar grupos significativamente diferentes.



Tratamientos

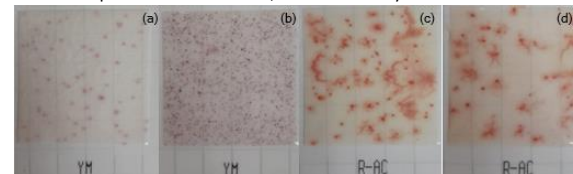
N°	Tratamiento	Descripción de la interacción
1	a0b0	Tuna amarilla + tomate riñon
2	a0b1	Tuna amarilla + tomate cherry redondo
3	a0b2	Tuna amarilla + tomate cherry pera
4	a1b0	Tuna roja + tomate riñon
5	a1b1	Tuna roja + tomate cherry redondo
6	a1b2	Tuna roja + tomate cherry pera

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

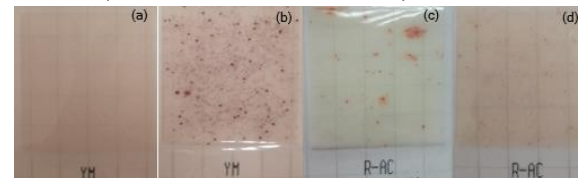
Caracterización fisicoquímica y microbiológica del mosto de tuna fresco y fermentado

Variable	Tuna amarilla (TA)		Tuna roja (TR)	
	Mosto fresco	Mosto fermentado	Mosto fresco	Mosto fermentado
pH	5.98	3.46	5.45	3.69
Acidez titulables (%ac. cítrico)	0.003072	0.09728	0.00512	0.0576
Sólidos solubles (%Brix)	13.2	13.1	12	6.67
Aerobios (UFC/ml)	8.0×10^4	4.4×10^4	4.2×10^4	9.7×10^4
Mohos y levaduras (UFC/ml)	6.6×10^5	MNPC	0	MNPC

Resultados de petrifilm mohos, levaduras y aerobios mosto TA



Resultados de petrifilm mohos, levaduras y aerobios mosto TR



pH: los valores obtenidos en el mosto fresco coincide con los reportados en otros estudios, (Terán y otros, 2015) pH de la pulpa de 5.982 con desviación ± 0.379 .

Por otro lado, en los mostos fermentados la disminución del pH es una característica común del proceso fermentativo, sobre todo con presencia de bacterias ácido lácticas, 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.

Acidez titulable: dentro de los requerimientos establecidos en la normativa INEN 1 978, en la que se establece un % acidez titulable en base al ácido cítrico máxima de 1.08 (INEN, 2009). Otras investigaciones: 0.056% (Lemus & Mendoza Ramos, 2011) y (Piga, 2004) 0.05-0.18 %.

%Brix: (Aquino Bolaños, y otros, 2012) rangos de 9.67-14.12 °Brix, (Lemus & Mendoza Ramos, 2011) promedio 15.67 °Brix. Los valores obtenidos cumplen con la normativa INEN, los °Bx mínimos aceptados son 10 (INEN, 2009).

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 (Verón, y otros, 2019). 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).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Rendimiento de los mostos extraídos a partir de los frutos de dos tipos de tuna

Materia prima e insumos	Tuna amarilla (TA)		Tuna roja (TR)	
	Peso (g)	(%)	Peso (g)	(%)
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	100%	3490.56	100%

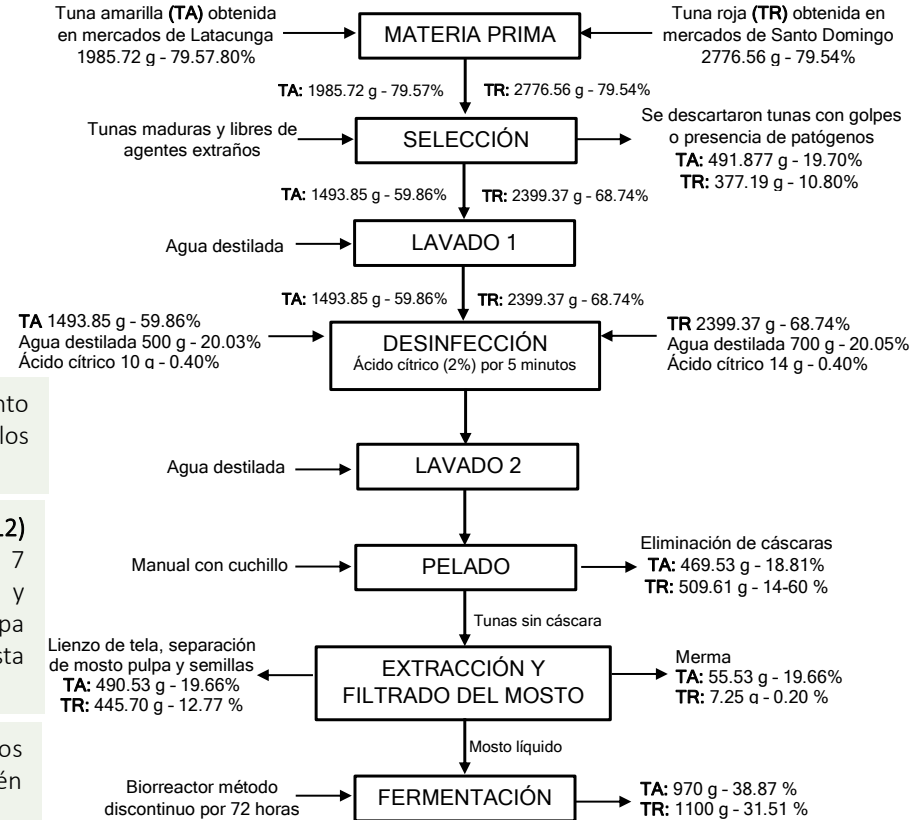
$$\text{Rendimiento (R)} = \frac{\text{Peso final (P.F)}}{\text{Peso inicial (P.I)}} * 100 \%$$

Los porcentajes de rendimiento obtenidos, coinciden con los reportados en otras investigaciones:

(Aquino Bolaños, y otros, 2012) evaluaron los componentes de 7 variedades de *Opuntia ssp.*, y obtuvieron rendimientos de pulpa muy variados entre 28.79 hasta 62.94%.

(Piga, 2004) analizó la especie *Opuntia ficus-indica* (L.). Mill y encontró rendimientos entre 43 a 57% para la pulpa del fruto, sin embargo, dentro de estos valores también incluye los rendimientos de las semillas que pueden ser de 2 al 10%

Rendimiento de mostos	
Tuna amarilla (TA)	Tuna roja (TR)
38.87%	31.51%



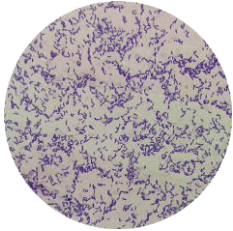
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

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

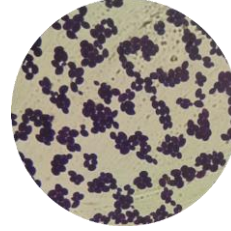
Mosto fermentado de tuna amarilla

Mosto fermentado de tuna roja

Resultados microscópicos y bioquímicos



- Forma cocoide
- Gram positivas
- Catalasa negativa



- Forma cocos
- Gram positivas
- Catalasa negativa



Resultados moleculares

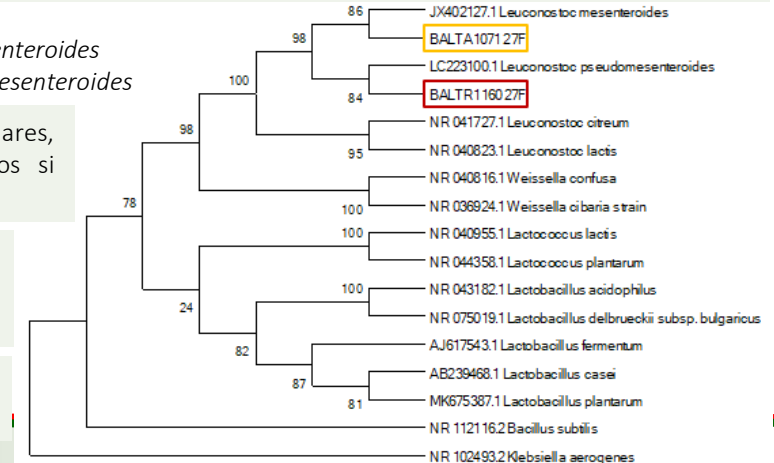
Promotor 27F

- 1071 nt para la bacteria aislada de la tuna amarilla
- 1160 nt para la bacteria aislada de la tuna roja.
- Tuna amarilla: 99% *Leuconostoc mesenteroides*
- Tuna roja: 98% *Leuconostoc pseudomesenteroides*

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.

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).

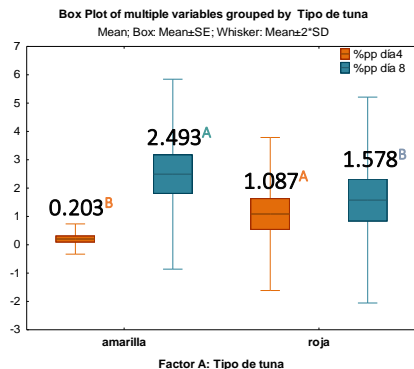


RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados estadísticos

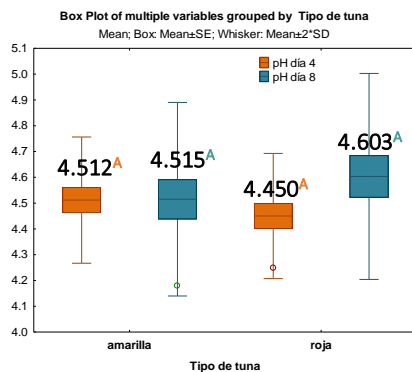
FACTOR A : Tipo de tuna

Porcentaje pérdida de peso



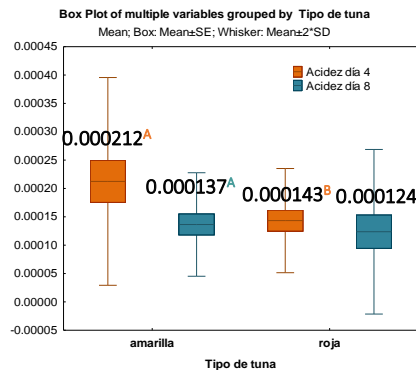
Se encontraron dos grupos significativamente diferentes. En el día 4, fue la tuna roja la que presentó la media más alta. En cambio, en el día 8 es la tuna amarilla la que tiene la media con el valor más alto.

pH



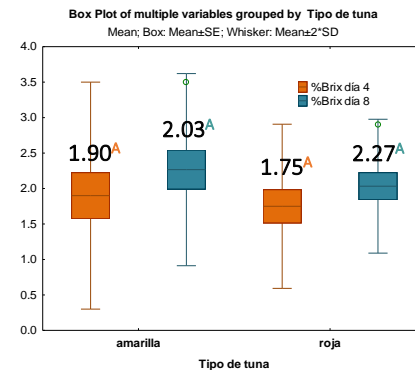
Se evidencia que las medias se mantienen similares, por lo tanto, no hay diferencias significativas y solo se identifica un solo grupo estadístico en ambos tipos de tuna.

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,

Sólidos solubles



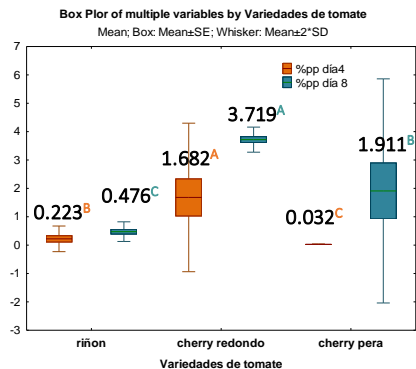
La prueba Tukey identificó medias con valores muy cercanos. Por lo tanto, no hay diferencias significativas y solo se identifica un solo grupo estadístico en ambos tipos de tuna.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados estadísticos

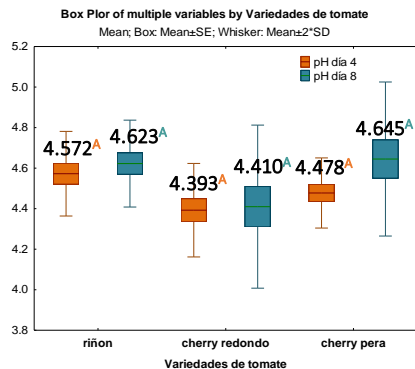
FACTOR B : Variedades de tomate

Porcentaje pérdida de peso



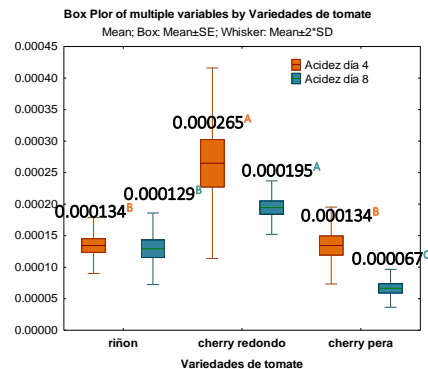
Se identificaron 3 grupos significativamente diferentes, el tomate cherry redondo fue la variedad de tomate con el mayor porcentaje de pérdida de peso 1.682 %pp en el día 4 y 3.719 %pp para el día 8.

pH



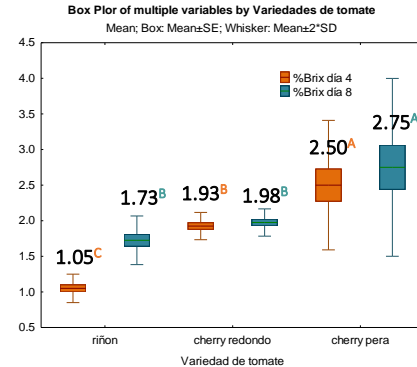
Con respecto al pH (figura 10), las medias de las variedades de tomate no presentan diferencias significativas y constituyen un solo grupo estadístico homogéneo.

Acidez titulable



En el día 4 se identificaron 2 grupos significativamente diferentes, el tomate cherry redondo es la variedad con el valor más alto (0.000265). En el día 8, se identificaron 3 grupos significativamente diferentes y sigue siendo el tomate cherry redondo, la variedad con acidez más alta.

Sólidos solubles



Para el día 4, se identificaron 3 grupos, la variedad de tomate cherry pera presentó el mayor valor (2.50 %brix). En cambio, en el día 8, solo se identificaron 2 grupos significativos, pero la variedad cherry pera se mantiene como la de mayor valor (2.75 %brix).

La acidez puede variar 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 reportó valores de acidez titulable más altos 0.00025 en día 4 y 0.000195 para el día 8.

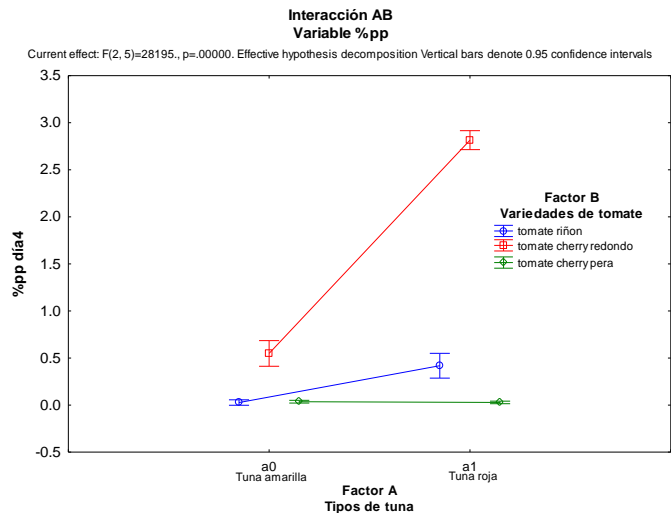
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados estadísticos

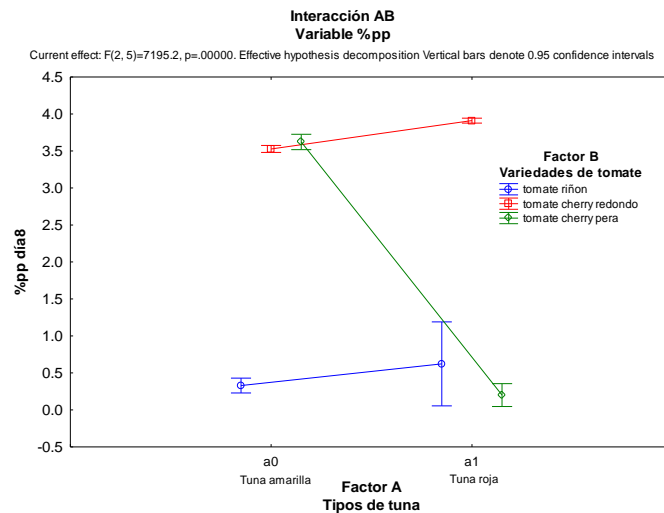
INTERACCIÓN AB (tratamientos): tipos de tuna con variedades de tomate

Porcentaje pérdida de peso

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).



La interacción de la tuna roja con el tomate cherry redondo es la que presenta la media más alta, 2.815 %pp en el día 4 y 3.91 %pp para el día 8. En cambio, la interacción de la tuna amarilla con el tomate riñón genera el menor porcentaje de pérdida de peso durante los 8 días de conservación de tomate (0.0329 %pp), por lo tanto se lo considera como el tratamiento más favorable para la bioconservación de tomates.

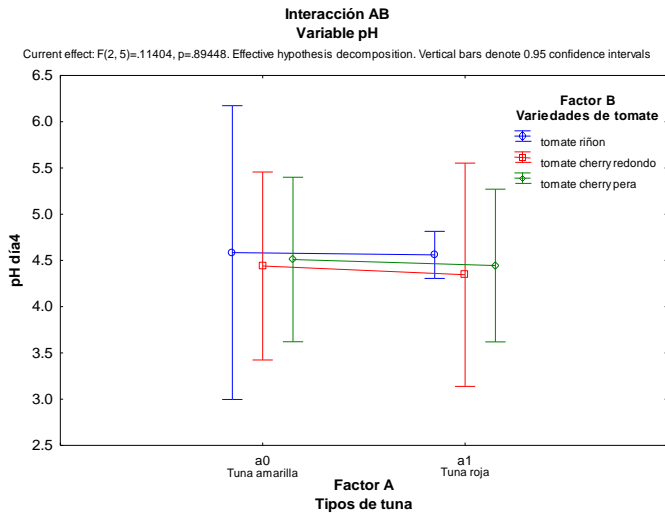


RESULTADOS Y DISCUSIÓN

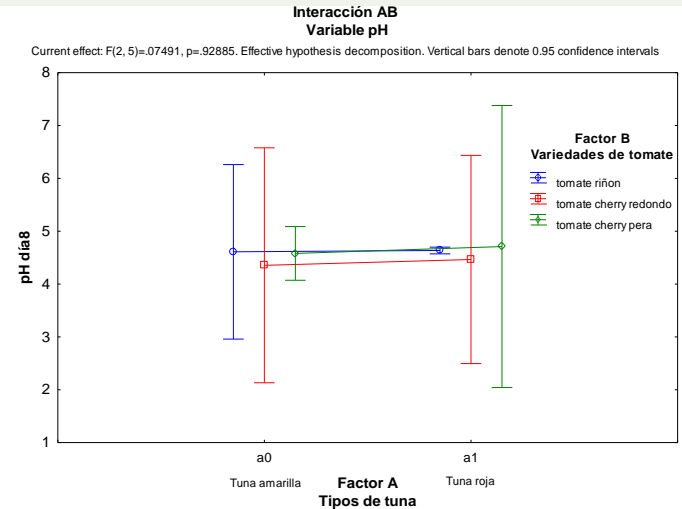
Resultados estadísticos

INTERACCIÓN AB (tratamientos): tipos de tuna con variedades de tomate

pH



El ANOVA y la prueba tukey no mostraron diferencias significativas entre las distintas interacciones evaluadas. Tanto para el día 4 como en el día 8, los valores de pH resultantes de los tratamientos aplicados, tienen valores de medias muy similares.



Los valores obtenidos coinciden con otras investigaciones, en las que se reporta que el tomate usualmente presenta valores de pH comprendidos entre 4.15 a 4.80 (Ordoñez Santos, 2006).

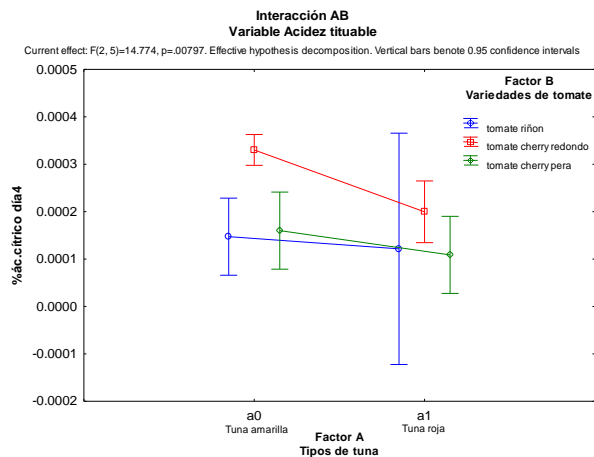
Sin embargo, cuando los tiempos de conservación son extensos hay una tendencia de aumento de los valores de pH, incluso hasta alcanzar valores neutros que los hacen más susceptibles a ataques microbianos (Hernández Yépez, 2013).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados estadísticos

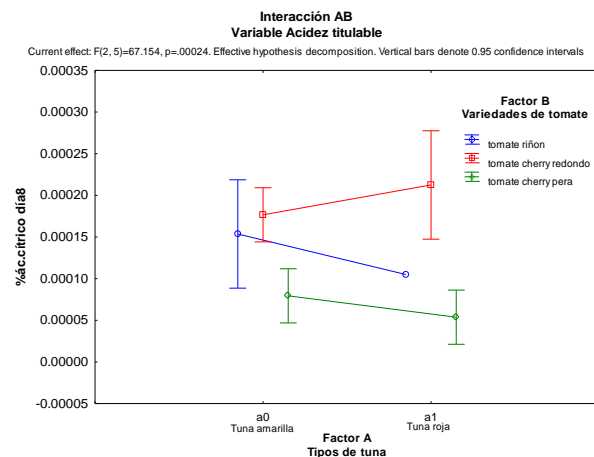
INTERACCIÓN AB (tratamientos): tipos de tuna con variedades de tomate

Acidez titulable



En el día 4 la interacción de tuna amarilla con tomate cherry redondo es la que mayor valor de acidez titulable presenta (0.000330 g ác. cítrico/1000 cm³). Las interacciones de tuna roja con tomate riñón y tomate cherry pera son las que menor acidez presentan 0.000122 y 0.000108, respectivamente.

Para el día 8, el valor más alto fue de la interacción tuna roja con tomate cherry redondo (0.000212 g ác. cítrico/1000 cm³), y el más bajo para la interacción tuna roja con tomate cherry pera (0.000054 g ác. cítrico/1000 cm³)

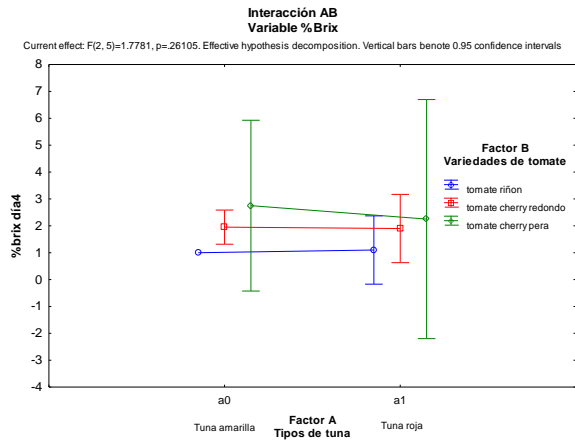


Comparando los dos días de conservación, se notó una tendencia general de disminución de la acidez conforme aumentaban los días de conservación, esto se explica como un cambio metabólico natural durante el almacenamiento de productos hortofrutícolas, ya que en estas condiciones los ácidos orgánicos muestran tendencia a convertirse en azúcares (Hernández Yépez, 2013).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

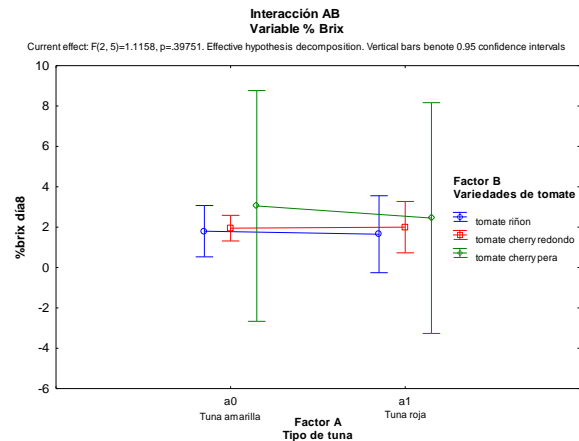
Resultados estadísticos

INTERACCIÓN AB (tratamientos): tipos de tuna con variedades de tomate



Contenido de sólidos solubles

No existen diferencias significativas entre los tratamientos aplicados, ya que sus medias son muy cercanas en los días 4 y 8 de bioconservación



- Se considera a la variable contenido de 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.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados estadísticos

INTERACCIÓN AB (tratamientos): tipos de tuna con variedades de tomate

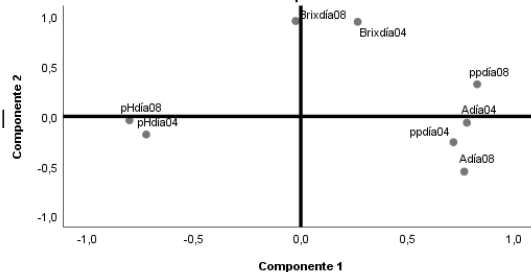
Análisis de componentes principales

	%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

Las correlaciones más cercanas se encuentran entre las variables:

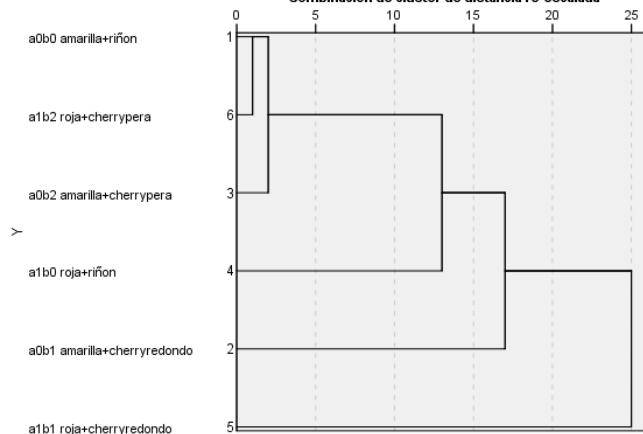
- porcentaje pérdida de peso con acidez
- contenido de sólidos solubles del día 4 con el día 8
- pH del día 4 con el día 8.

Gráfico de componente



Análisis de conglomerados

Dendrograma que utiliza un enlace único
Combinación de clúster de distancia re-escalada



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 Y DISCUSIÓN

Resultados microbiológicos

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

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.

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).

CONCLUSIONES



- El mosto líquido obtenido a partir de la tuna amarilla presenta mayores porcentaje de rendimiento. La fermentación de los mostos de tuna, generan cambios en las variables físico-químicas y microbiológicas. Además, beneficia el crecimiento y la proliferación de aerobios, mohos y levaduras.
 - Los procesos de fermentación discontinua permiten el aislamiento de bacterias autóctonas presentes en los mostos de tuna. Se concluye que el tipo de tuna influye sobre la especie bacteriana aislada, ya que a partir de los dos tipos de tuna se logró el aislamiento de dos especies de bacterias ácido lácticas.
-
- El tipo de tuna influye sobre la bioconservación de los tomates, ya que la solución bacteriana del tipo de tuna amarilla, *Leuconostoc mesenteroides* fue la que presentó mejores efectos sobre la variables físico químicas y microbiológicas analizadas en los tomates durante 8 días de bioconservación.
 - 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 solidos solubles difirieron significativamente entre las tres 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 bioconservante presenta.

RECOMENDACIONES



- ✓ Utilizar el tipo de tuna amarilla, ya que es la que mejor valor de rendimiento reporta y además, presenta valores beneficiosos de pH, acidez, sólidos solubles y contenidos microbianos.
- ✓ Con respecto, al aislamiento de bacterias ácido lácticas, se recomienda la aplicación de fermentaciones por método discontinuo, ya que benefician la proliferación de los microorganismos autóctonos presentes en el mosto de tuna. En especial, se recomienda la fermentación del mosto obtenido a partir de la tuna amarilla, porque permite el aislamiento de *Leuconostoc mesenteroides*, una especie de bacteria ácido láctica que presenta múltiples beneficios en la fermentación de alimentos.
- ✓ Aplicar soluciones de la bacteria *Leuconostoc mesenteroides* obtenida a partir de tuna amarilla, como bioconservante debido a que influye en la obtención de mejores resultados físico químicos y microbiológicos.
- ✓ Utilizar la variedad de tomate “riñón” a fin de obtener mejores resultados físicoquímicos y microbiológicos durante la bioconservación.
- ✓ Se recomienda la aplicación de la interacción tuna amarilla con tomates de la variedad “riñón”, ya que es el tratamiento que mejores características físicoquímicas y microbiológicas presentaron durante los 8 días de bioconservación.