



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS PECUARIAS**

**“USO DE UN PROBIÓTICO (*Lactobacillus casei*) EN LA ELABORACIÓN DE
PULPA DE GUANÁBANA”.**

TRABAJO DE TITULACIÓN

TIPO: TRABAJOS EXPERIMENTALES

**Previo a la obtención del título de:
INGENIERO EN INDUSTRIAS PECUARIAS**

**AUTOR:
CRISTIAN RICARDO QUISHPE ROSAS**

RIOBAMBA - ECUADOR

2017

El presente trabajo de titulación fue aprobado por el siguiente tribunal



**Ing. Freddy Patricio Erazo Rodriguez, MSc.
PRESIDENTE DEL TRABAJO DE TITULACIÓN**



**Ing. Guillermo Xavier Mendoza Zurita, MSc.
DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN**



**Ing. Armando Vinicio Paredes Peralta, MSc.
ASESOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN**

Riobamba, 17 de Julio del 2020

El

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo Cristian Ricardo Quishpe Rosas declaro que el presente Trabajo de Titulación **“USO DE UN PROBIÓTICO (*Lactobacillus casei*) EN LA ELABORACIÓN DE PULPA DE GUANÁBANA”**, es de mi autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autor asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos presentes en este Trabajo de Titulación.

Riobamba, 17 de Julio del 2017



Cristian Ricardo Quishpe Rosas

C.I.:172413861-3

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, por permitirme desenvolver mi vida universitaria por la educación brindada en mi formación profesional y humana con docentes de calidad

A Ercilia por darme ese amor de madre que no tenía, a mi padre Alfonso por darme la vida, gracias por mostrarme el camino correcto y guiarme por él, porque con su comprensión, cariño y todo su amor desinteresado son mi gran fortaleza, por darme todo sin pedir nada, por su dedicación, por formarme como una persona con carácter sólido, por ser un buen ejemplo, porque gracias a ustedes todo lo que tengo no hubiera sido posible.

Al Ing. Guillermo Mendoza, MSc. Director de tesis por su esfuerzo y dedicación, quien con sus conocimientos, su experiencia, su paciencia y su motivación ha logrado en mí que pueda terminar mis estudios con éxito.

Agradezco a esa persona por ser una parte muy importante en mi vida, por haberme apoyado en las buenas y en las malas, sobre todo por su paciencia y su amor incondicional. T.A.

Son muchas las personas que han formado parte de mi vida familiares y amigos a las que me encantaría agradecerles su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía en los momentos más difíciles de mi vida, sin importar en donde estén quiero darles las gracias por formar parte de mí, por todo lo que me han brindado y por todas sus bendiciones.

Para ellos: Muchas gracias y que Dios los bendiga.

Cristian Ricardo

DEDICATORIA

Esta tesis se la dedico a mi Creador quién supo guiarme por el buen camino, darme fuerzas para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se presentaban, enseñándome a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento.

A la mujer que primero fue mi tía, luego fue mi madrina y ahora se ha convertido en mi madre, no dejo de pensar en los primeros pasos, si hay algo que se hacer bien es por ti, y cuando llega la recompensa por un esfuerzo no puedo dejar de recordar tu cercanía, complicidad... tu ejemplo. Que esta sea la recompensa a tantos años de entrega, desvelos apoyo: estamos juntos, te quiero con todo mi corazón

A mi padre que detrás de este logro estas tú, tu apoyo, confianza. Nada podría ser mejor: gracias por darme la oportunidad de hacer realidad este sueño compartido, por alentarme a hacer lo que quiero y ser como soy.

A mis abuelos porque he aprendido y heredado sus fuerzas y entrega. Gracias por todo su cariño, por sus abrazos y bendiciones, porque siempre dan lo mejor. Gracias por sus oraciones, dios los bendiga siempre.

Cristian Ricardo

CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN	v
ABSTRACT	vi
LISTA DE CUADROS	vii
LISTA DE GRÁFICOS	viii
LISTA DE ANEXOS	ix
I. <u>INTRODUCCIÓN</u>	
II. <u>REVISIÓN DE LITERATURA</u>	3
A. ALIMENTOS FUNCIONALES	3
1. <u>Alimentos funcionales en el mundo.</u>	5
2. <u>La industria alimentaria y el desarrollo de alimentos funcionales.</u>	7
3. <u>Tipos de alimentos funcionales y saludables.</u>	8
a. Alimentos saludables de bajo valor nutricional	8
b. Alimentos saludables y funcionales con buen valor nutricional	8
c. Alimentos saludables no convencionales	9
d. Alimentos saludables condicionales	9
e. Alimentos saludables controvertidos	9
f. Propiedades benéficas de los alimentos funcionales probióticos	10
B. BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS.	11
1. <u>Probióticos.</u>	11
2. <u>Situación Actual.</u>	12
3. <u>Tipos de Probióticos.</u>	12
a. Probióticos naturales.	13
b. Probióticos comercializados.	13
c. Suplementos alimenticios que contienen probióticos	13
d. Productos	14
4. <u>Selección de cepas probióticas para su utilización en seres humanos.</u>	14
5. <u>Clasificación e identificación de las distintas cepas.</u>	15
6. <u>Definición y medición de los beneficios de los probióticos para la salud.</u>	15
7. <u>Especie <i>Lactobacilos casei</i> con potencial probiótico.</u>	16
a. Significado.	17
b. Función.	17

c.	Marco de tiempo.	17
d.	Suplementos con probióticos.	18
8.	<u>Microorganismos probióticos en productos no lácteos sin fermentación.</u>	18
C.	PULPA DE FRUTAS.	19
1.	<u>Pulpa.</u>	19
2.	<u>El Sector de Jugos y Conservas de Frutas.</u>	20
3.	<u>Sector de conservas.</u>	22
D.	GUANÁBANA.	22
1.	<u>Annona muricata.</u>	22
2.	<u>Descripción.</u>	22
3.	<u>Usos como alimento.</u>	23
III.	<u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	26
A.	LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN DEL EXPERIMENTO:	26
1.	<u>Localización.</u>	26
2.	<u>Condiciones meteorológicas.</u>	26
3.	<u>Duración.</u>	26
B.	UNIDADES EXPERIMENTALES.	26
C.	MATERIA PRIMA, MATERIALES, EQUIPOS, E INSTALACIONES.	27
1.	<u>Materia Prima.</u>	27
2.	<u>Materiales.</u>	27
3.	<u>Equipos.</u>	28
4.	<u>Reactivos.</u>	28
5.	<u>Medios de cultivo.</u>	28
6.	<u>Instalaciones.</u>	29
D.	TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL.	29
E.	MEDICIONES EXPERIMENTALES.	30
1.	<u>Análisis físico-químico.</u>	30
2.	<u>Análisis organoléptico.</u>	30
3.	<u>Análisis microbiológico.</u>	31
4.	<u>Vida de anaquel.</u>	31
5.	<u>Económico.</u>	31
F.	ANÁLISIS ESTADÍSTICOS Y PRUEBAS DE SIGNIFICANCIA.	31

1.	<u>Esquema del ADEVA.</u>	31
G.	PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL (en orden de ejecución).	32
H.	METODOLOGÍA DE EVALUACIÓN.	33
1.	<u>Determinación de azúcares °Brix.</u>	34
2.	<u>Determinación de pH.</u>	34
3.	<u>Determinación de Acidez °Dornic.</u>	35
4.	<u>Evaluación sensorial.</u>	36
5.	<u>Determinación de la muestra y disoluciones</u>	36
6.	<u>Determinación de Aerobios mesófilos.</u>	37
7.	<u>Determinación de Mohos y levaduras.</u>	38
8.	<u>Determinación de Bacterias ácido lácticas.</u>	39
9.	<u>Determinación de Coliformes totales.</u>	40
IV.	<u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	41
A	ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS DE LA PULPA DE GUANÁBANA ELABORADA CON ADICIÓN DE PROBIÓTICOS (<i>Lactobacilos casei</i>).	41
1.	<u>Azúcares °Brix.</u>	41
2.	<u>pH.</u>	43
3.	<u>Acidez °Dornic.</u>	46
B.	ANÁLISIS ORGANOLÉPTICOS DE LA PULPA DE GUANÁBANA ELABORADA CON ADICIÓN DE PROBIÓTICOS (<i>Lactobacilos casei</i>).	49
1.	<u>Color, 5 puntos.</u>	49
2.	<u>Olor, 5 puntos.</u>	49
3.	<u>Sabor, 5 puntos.</u>	50
4.	<u>Carácter apetecible ,5 puntos.</u>	50
C.	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA PULPA DE GUANABANA ELABORADA CON ADICIÓN DE PROBIÓTICOS (<i>Lactobacilos casei</i>).	53
1.	<u>Aerobios Mesófilos.</u>	53
2.	<u>Mohos y Levaduras.</u>	55
3.	<u>Bacterias ácido lácticas.</u>	57
4.	<u>Coliformes Totales.</u>	60
D.	VIDA DE ANAQUEL.	61

1. <u>°Brix.</u>	61
2. <u>pH.</u>	62
3. <u>Acidez.</u>	63
4. <u>Microbiológica.</u>	64
E. BENEFICIO COSTO:	66
V. <u>CONCLUSIONES</u>	68
VI. <u>RECOMENDACIONES</u>	71
VII. <u>LITERATURA CITADA</u>	73
ANEXOS	

RESUMEN

Este trabajo se realizó en el laboratorio de procesamiento de alimentos de la FCP, de la ESPOCH, se procesó pulpa de guanábana con diferentes niveles de probiótico (*Lactobacillus casei*), utilizando 16 muestras de pulpa que fueron distribuidas en 4 tratamientos y 4 repeticiones, modeladas con un diseño completamente al azar, donde se evaluó las características físico-química, organolépticas, microbiológicas; así como la vida útil y el parámetro económico, se almacenó la pulpa de guanábana a -20°C. Los resultados obtenidos mostraron que no hay diferencia estadística significativa entre los tratamientos en el parámetro de °Brix, mientras que presentó disminuciones estadísticas significativas en los parámetros de pH y acidez. Los resultados microbiológicos obtenidos mostraron que no hay diferencia estadística significativa entre los tratamientos para aerobios mesófilos y mohos/levaduras, la pulpa de guanábana presentó cambios significativos en bacterias ácido lácticos (BAL) entre los tratamientos, la máxima concentración se obtuvo a partir del tratamiento 1,5% de probióticos (10⁶ UFC/ml); no hubo presencia de coliformes totales en ninguno de los tratamientos. Las características organolépticas de la pulpa de guanábana en todos los tratamientos registraron una aceptabilidad de buena y muy buena sin diferencias significativas. Al trabajar con el tratamiento 1,5% de *Lactobacillus casei* se obtiene una mayor vida útil. La mayor rentabilidad se consigue al trabajar con el 0% de probiótico pero sin beneficio funcional, mientras que al trabajar con el tratamiento 1,5% de probióticos se obtiene un beneficio-costo negativo, este producto deberá comercializarse a un mayor precio debido a que posee propiedades funcionales.

ABSTRACT

This work was carried out in the FCP food processing laboratory of ESPOCH. Guanabana pulp with different probiotic levels (*Lactobacillus casei*) was processed using 16 pulp samples that were distributed in 4 treatments and 4 replicates, modeled with a completely random design, where physical-chemical, organoleptic and microbiological characteristics were evaluated; As well as the shelf life and economic parameter, the guanabana pulp was stored at -20°C. The results obtained show that there is no statistically significant difference between the treatments in the parameter of °Brix, while it showed statistically significant decreases in the parameters of pH and acidity. The microbiological result obtained showing that there is no statistically significant difference between treatments for mesophilic and mold/yeast, Guanabana pulp presented significant changes in lactic acid bacteria (BAL) among treatments, the highest concentration was obtained from treatment 1,5% probiotics (10^6 CFU/ml); No total coliforms were present in any of the treatments. The organoleptic characteristics of the guanabana pulp in all treatments registered an acceptability of good and very good without significant differences. When working with the treatment 1.5% of *Lactobacillus casei* a longer life is obtained. The highest profitability is achieved by working with 0% probiotic but without functional benefit, while working with the 1.5% treatment of probiotics yields a negative cost-benefit, this product should be marketed at a higher price than it has functional properties.



LISTA DE CUADROS

Nº	Pág.
1. COMPONENTES DE ALIMENTOS DE LOS QUE SE HA DEMOSTRADO SU EFECTO BENEFICIOSO SOBRE DETERMINADAS FUNCIONES DEL ORGANISMO	4
2. PRINCIPALES COMPONENTES FUNCIONALES	6
3. PRINCIPALES EMPRESAS PRODUCTORAS DE FRUTAS EN CONSERVA.	21
4. VALOR ALIMENTICIO POR 100 G DE PORCIÓN COMESTIBLE	25
5. CONDICIONES METEOROLÓGICAS	26
6. ESQUEMA DEL EXPERIMENTO:	29
7. ANÁLISIS DE LA VARIANZA (ADEVA)	31
8. CONTENIDO DE AZÚCARES (°Brix) DE LA PULPA DE GUANÁBANA ELABORADA CON <i>Lactobacillus casei</i> .	42
9. CONTENIDO DE pH DE LA PULPA DE GUANÁBANA ELABORADA CON <i>Lactobacillus casei</i>	44
10. CONTENIDO DE ACIDEZ (°DORNIC) DE LA PULPA DE GUANÁBANA ELABORADA CON <i>Lactobacillus casei</i>	44
11. CARACTERÍSTICAS ORGALEPTICAS DE LA PULPA DE GUANÁBANA ELABORADA CON <i>Lactobacillus casei</i>	52
12. CONTENIDO DE AEROBIOS MESOFILOS (UFC/ML) DE LA PULPA DE GUANÁBANA ELABORADA CON <i>Lactobacillus casei</i>	54
13. CONTENIDO DE MOHOS Y LEVADURAS (UP/ML) DE LA PULPA DE GUANÁBANA ELABORADA CON <i>Lactobacillus casei</i>	56
14. CONTENIDO DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS (UFC/ML) DE LA PULPA DE GUANÁBANA ELABORADA CON <i>Lactobacillus casei</i>	59
15. VALORES DE LN DE CADA VALOR DE UFC/ML PARA CALCULAR MOHOS Y LEVADURAS	65
16. BENEFICIO - COSTO (DÓLARES) EN LA ELABORACIÓN DE PULPA DE GUANÁBANA CON PROBIÓTICOS <i>Lactobacillus casei</i>	66

LISTA DE GRAFICOS

Nº	Pág.
1. pH de la pulpa de guanábana elaborada con <i>Lactobacillus casei</i> .	45
2. Acidez de la pulpa de guanábana elaborada con <i>Lactobacillus casei</i> .	48
3. Bacterias ácido lácticas de la pulpa de guanábana elaborada con <i>Lactobacillus casei</i> .	60
4. Contenido de azúcares de la pulpa de guanábana elaborada con <i>Lactobacillus casei</i> , durante 60 días.	61
5. pH de la pulpa de guanábana elaborada con <i>Lactobacillus casei</i> , durante 60 días.	62
6. Acidez de la pulpa de guanábana elaborada con <i>Lactobacillus casei</i> , durante (60 días)	63
7. Vida útil Microbiológica de la pulpa de guanábana elaborada con <i>Lactobacillus casei</i> , durante 60 días	64

LISTA DE ANEXOS

Nº

1. Descripción Cultivo láctico probiótico concentrado liofilizado para aplicaciones lácteas y bebidas.
2. Hoja guía de la Catación a los panelistas.
3. Evidencia Fotográfica Proceso de la Elaboración de la pulpa de Guanábana con adición de Probióticos.
4. Evidencia Fotográfica de los Análisis físicos - Químicos y Catación de la pulpa de Guanábana con adición de Probióticos, en el laboratorio de procesamiento de alimentos facultad de ciencias pecuarias, ESPOCH.
5. Evidencia Fotográfica de los Análisis Microbiológicos de la pulpa de Guanábana con adición de Probióticos, en el laboratorio de microbiología de los alimentos, facultad de ciencias pecuarias, ESPOCH.
6. Análisis de varianza de las propiedades físico-química del experimento.

I. INTRODUCCIÓN

Existe en la actualidad un interés creciente a nivel mundial en el desarrollo de los alimentos funcionales, este tipo de alimentos ayuda a prevenir enfermedades y a mejorar el estado de salud, dando así una iniciativa por aumentar el consumo y producción a este tipo de alimento pero también brindándole un valor agregado a las frutas en el Ecuador, apoyando de esta manera con diversos programas internacionales los cuales consisten en la ración mínima de consumo diario de FRUTAS recomendada por la comunidad científica y médica en una dieta saludable, y teniendo en cuenta la importancia del consumo de pulpa de fruta en el país, el presente trabajo contribuye en el diseño de una pulpa funcional de fruta con propiedades probióticas, de esta manera se está aprovechando los beneficios saludables de los microorganismos probióticos.

Para lograr este trabajo, la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, a través de los laboratorios tanto de Alimentos y El laboratorio de microbiología de los alimentos, han unido sus esfuerzos para dar soluciones a estos problemas desarrollando un nuevo proceso y producto como el diseño de la pulpa funcional con propiedades probióticas.

debido a este contexto es necesario dar inicio a una solución para incrementar el consumo de frutas realizando innovación en cuanto al tipo de producto dándole un mayor valor agregado, pues no se ha valorado en toda su dimensión la riqueza nutricional de las frutas producidas en Ecuador, y/o enriquecerlas con microorganismos probióticos aprovechando sus ventajas nutricionales, con la posibilidad de desarrollar una “Pulpa Funcional” que traiga beneficios adicionales al consumidor y de esta forma incrementar el consumo de pulpas.

Ya que los probióticos están siendo ampliamente desarrollados e incorporados en matrices lácteas, sin embargo, las personas con intolerancia y alergia a la lactosa, vegetarianos e hipercolesterolémicos, no pueden ingerir este tipo de productos, surgiendo así la necesidad de desarrollar nuevos productos como bebidas no lácteas y suplementos en comprimidos, la solución de la Ingeniería en Industrias

Pecuarias en estos trabajos se ha vuelto indispensable para validar procesos desarrollar nuevos productos, y de esta forma mejorar el estilo de vida de las personas al contribuir con el compromiso de lograr una alimentación sana y beneficiosa para la población, por lo cual los objetivos planteados en la presente investigación fueron:

- Utilizar un probiótico (*Lactobacilos casei*) en la elaboración de pulpa de guanábana para crear un alimento funcional.
- Evaluar las características físico-químicas de la pulpa de guanábana adicionada con cultivo probiótico (*Lactobacilos casei*).
- Establecer el grado de aceptabilidad de la pulpa de guanábana con adición de probiótico (*Lactobacilos casei*) mediante pruebas organolépticas.
- Evaluar la vida útil de la pulpa de guanábana adicionado con cultivo probiótico (*Lactobacilos casei*) hasta los 60 días.
- Determinar el nivel óptimo de probiótico (*Lactobacilos casei*) de la pulpa de guanábana empleando 0,5%, 1% y 1,5% en la elaboración.
- Determinar su rentabilidad mediante el indicador beneficio-costos.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

A. ALIMENTOS FUNCIONALES

Serra, B. Ferrer. y Dalmau, J. (2001), definen a un AF como un alimento que está demostrado que actúa beneficiosamente sobre una o más funciones del cuerpo, además de su efecto nutricional, este también va mejorando la salud y el bienestar y/o reduciendo el riesgo de enfermedades.

Serra, B. et al. (2001), indican que este alimento puede ser natural, a este alimento se le ha añadido, eliminado o modificado un componente por medios biotecnológicos, el mejor ejemplo de un AF es la leche humana, que contiene gran número de elementos bio-activos (enzimas, factores de crecimiento, aminoácidos libres, inmunoglobulinas, oligosacáridos), cuyo efecto va mucho más allá del puramente nutricional.

Serra, B. et al. (2001), nos dicen que existen muchos componentes de alimentos de los que se ha demostrado su efecto beneficioso sobre determinadas funciones del organismo (cuadro 1). La adición de estos componentes a un alimento común, lo transforma en un AF, un ejemplo muy claro tenemos, el yogur con bacterias probióticas, el ácido fólico en los cereales o los ácidos grasos ω -3 en las margarinas y productos lácteos.

Silveira, M. Monereo, S. y Molina, B. (2003), indican que los Alimentos funcionales más populares son el conjunto de alimentos fermentados por bifidobacterias y lactobacilos. Los probióticos son AF que se caracterizan por contener microorganismos vivos. El yogur (obtenido de la fermentación de la leche por *Lactobacillus. bulgaricus* y *S. thermophilus* y otros derivados lácteos fermentados son los principales representantes de este grupo de AF, al que también pertenecen algunos vegetales y productos cárnicos fermentados. Los mecanismos por los cuales los probióticos ejercen sus acciones beneficiosas no son bien conocidos, aunque se postulan como los más relevantes la producción de lactasa, (Cuadro 1).

Cuadro 1. COMPONENTES DE ALIMENTOS DE LOS QUE SE HA DEMOSTRADO SU EFECTO BENEFICIOSO SOBRE DETERMINADAS FUNCIONES DEL ORGANISMO.

Posibilidades de modulación: funciones diana y componentes funcionales de los alimentos	
Funciones diana	Componente Funciona
Crecimiento y desarrollo	Ca, Vit D, Vit C Factores crecimiento Vitaminas antioxidantes Probióticos
Metabolismo	PUFA ω 3/ ω 6 Fibra Aminoácidos/proteínas específicas
Estrés oxidativo	Vit E Vit C Carotenos Polifenoles
Sistema cardiovascular	MUFA/PUFA Sustitutos de la grasa Ácido fólico
Fisiología intestinal	Prebióticos Probióticos Simbióticos
Funciones psicológicas y de conducta	Proteínas Tirosina y triptófano Sustitutos grasa/azúcares Alcohol Cafeína

Fuente: Serra, B. et al. (2001).

1. Alimentos funcionales en el mundo.

Alvídrez, A. González. B. y Jiménez, Z. (2002), comentan que en la Actualidad existen muchos alimentos funcionales en el mundo. En el Cuadro 2 se presentan algunos ejemplos de componentes de alimentos funcionales. Estados Unidos es uno de los países que tiene muy claro el objetivo de los alimentos funcionales para llegar a prevenir enfermedades en la población, resulta fácil encontrar barras de cereales las cuales son destinadas a mujeres de mediana edad, suplementadas con calcio para prevenir la osteoporosis, o por proteína de soya para reducir el riesgo de cáncer de mama y con ácido fólico, para un corazón más sano, panecillos energizantes y galletas adicionadas con proteínas, zinc y antioxidantes.

Alvídrez, A. et al. (2002), mencionan que en Europa se utilizan rótulos que indican "Valor aumentado", así como en Alemania se comercializan golosinas adicionadas con vitamina Q10 y vitamina E. En Italia las góndolas de los supermercados ofrecen yogures con omega 3 y vitaminas y Francia ofrece azúcar adicionada con fructo-oligosacaridos para fomentar el desarrollo de la flora benéfica intestinal.

Alvídrez, A. et al. (2002), Comentan que en EE.UU para llegar a prevenir ciertas enfermedades en la población, resulta fácil encontrar barras de cereales destinadas a mujeres de mediana edad, suplementadas con calcio para prevenir la osteoporosis, con proteína de soja para reducir el riesgo de cáncer de mama, con ácido fólico para un corazón más sano, panecillos energizantes y galletas adicionadas con proteínas, zinc y antioxidantes. Alimentos con soja que contienen isoflavones que reducen los síntomas de la menopausia. En Alemania se comercializan golosinas adicionadas con vitaminas K y/o E, en Italia vitaminas que previenen enfermedades cardiovasculares, en Francia se ofrece azúcar adicionada con fructo-oligosacaridos para fomentar el desarrollo de la flora benéfica intestinal.

Alvídrez, A. et al. (2002), nos dice que existen otros ejemplos como el consumo de productos de origen vegetal (frutas, verduras, granos integrales y leguminosos) es considerado como medio de protección contra enfermedades crónicas como el cáncer, la presencia de fitoquímicos contribuye a la reducción de estos riesgos.

Cuadro 2. PRINCIPALES COMPONENTES FUNCIONALES

Clase/Componente	Origen	Beneficio potencial
Carotenoides		
Beta caroteno	Zanahoria	Neutraliza los radicales libres que podrían dañar a las células
Luteína	Vegetales verdes	Contribuye a una visión sana
Licopeno	Tomate	Podría reducir el riesgo de cáncer de próstata
Fibras dietéticas		
Fibra insoluble	Cáscara de trigo	Podría reducir el riesgo de cáncer de colon
Beta glucano	Avena	Reduce el riesgo de enfermedad cardiovascular
Ácidos		
Omega 3, ácido graso DHA	Aceites de peces	Grasos Podrían reducir el riesgo de enf. Cardiovascular y mejorar funciones mentales y visuales
Ácido linoléico	Queso, productos cárnicos	Podrían mejorar la composición corporal, podrían reducir el riesgo de ciertos tipos de cáncer
Flavonoides		
Catequinas	Te	Neutraliza radicales libres, podría reducir el riesgo de cáncer
Flavonas	Cítricos	Neutraliza radicales libres, podría reducir el riesgo de cáncer
Esteroles vegetales		
Ester estanol	Maíz, soya, trigo	Reduce los niveles de colesterol sanguíneo
Prebióticos/Probióticos		
Fructooligosacáridos	Achicoria, cebolla	Podría mejorar la salud gastrointestinal
Lactobacilos	Yogurt	Podría mejorar la salud gastrointestinal
Fitoestrógenos		
Isoflavonas	Alimentos con soya	Podrían reducir los síntomas de la soya menopausia

Fuente: Alvídrez, A. et al. (2002).

2. La industria alimentaria y el desarrollo de alimentos funcionales.

Masís, M. y Sedó, P. (2002), reportan que aproximadamente hace treinta años, la industria alimentaria ha estado demostrando un desarrollo muy bueno en cuanto a productos modificados en el contenido de sustancias, las cuales científicamente se ha demostrado que son beneficiosas para la salud.

Braverman, V. (2001), analiza que el mercado de alimentos funcionales tomando en consideración el comportamiento del consumidor en torno a selección de alimentos, y cómo la industria ha dado respuesta a esas demandas del mercado, lo cual concuerda con los descubrimientos sobre efectos de la dieta en la salud humana. De esta forma, establece tres generaciones de productos "funcionales": la primera generación surge en la década de los setenta, época caracterizada por un mayor interés por parte de la población en consumir alimentos con poco procesamiento, tales como jugos naturales de frutas, yogurt y panes de grano entero.

Masís, M. y Sedó, P. (2002), indican que en la década de los ochenta, se presenta la segunda generación de alimentos naturales, caracterizados por estar modificados en el contenido de grasas y azúcares; surgen entonces los productos "light", "bajos en calorías", "bajos en grasa" y "bajos en azúcar", y paralelamente se resaltan aquellos productos "ricos en fibra".

Masís, M. y Sedó, P. (2002), mencionan que la tercera generación se inició en la década de los noventa, en donde surge el concepto de las propiedades funcionales, lo cual ha promovido la formulación de productos con características específicas, destacándose el desarrollo de los productos con "probióticos", "prebióticos", "Fito esteroides" y "fibras", analizan que ahora en la actualidad los consumidores conscientes de su salud, exigen información referente a contenido y propiedades del alimento, y esos datos espera recibirlos en actividades educativo nutricionales, con el fin de tener más respaldo a la hora de analizar una etiqueta, y tomar la decisión de su compra o no del producto.

3. Tipos de alimentos funcionales y saludables

Araya, H. y Lutz, M. (2003), informan Que existen numerosos ejemplos de alimentos saludables y funcionales. Para describirlos, se han clasificado en tono a sus características nutricionales complementarias y a su recomendación de consumo.

a. Alimentos saludables de bajo valor nutritivo

Araya, H. y Lutz, M. (2003), informan que en este grupo de alimentos nombramos a la cebolla y el ajo, alimentos utilizados como condimentos o especias en guisos y ensaladas. Estos productos se justifican como alimentos saludables por su alto aporte de flavonoides, compuestos polifenólicos con propiedades antioxidantes y compuestos órgano azufrados, respectivamente, el consumo de estos alimentos se asocian en estudios epidemiológicos y experimentales con disminución de riesgos de enfermedades cardiovasculares, stress oxidativo también poseen un efecto anticancerígeno.

b. Alimentos saludables y funcionales con buen valor nutritivo.

Araya, H. y Lutz, M. (2003), mencionan que dentro de este grupo de alimentos encontramos el poroto común o frejol, que presenta un alto contenido de proteínas, almidones de velocidad de digestión intermedia, un alto contenido de fibra dietética, fitatos, taninos y oligosacáridos no digerible. El yogur es un alimento funcional con buen valor nutritivo por su alto aporte de calcio, proteínas de buena calidad, alto contenido de riboflavina y aporte de probióticos, que le otorgan el sello de alimento funcional, esta combinación de ingredientes activos que actúan en sinergia favorece la regeneración rápida de la microflora intestinal, sobre todo cuando se encuentra fuertemente alterada, con casi toda la atención puesta en los probióticos, existe un complemento de los probióticos poco conocido llamado prebióticos, que juegan un papel muy importante en el rol de la digestión, con una buena fórmula de probióticos completos se obtiene una buena dosificación para el organismo.

c. Alimentos saludables no convencionales.

Araya, H. y Lutz, M. (2003), aseguran que la semilla de linaza es un alimento que no es consumido habitualmente en la dieta de gran parte de los países y por esta razón es considerado como un alimento no convencional. Contiene elevados porcentajes del ácido graso esencial alfa linolénico (18:3n-3), precursor de EPA (20:5n-3) y DHA (22:6n-3), los que poseen una amplia gama de roles fisiológicos destacados y cuyo consumo contribuye a disminuir los riesgos de enfermedades crónicas no transmisibles.

d. Alimentos saludables condicionados.

Araya, H. y Lutz, M. (2003), reportan que la pasta del cacao posee una alta concentración de polifenoles, de flavanoles como la catequina y epicatequina, flavonoles como la quercetina y antocianidinas como las cianidinas y sustancias estimulantes como las metilxantinas (teobromina y cafeína). Sin embargo, el alto contenido de grasa saturada (principalmente ácido esteárico, 18:0) en la manteca de cacao y de azúcares, lo hacen poco recomendables para las personas con riesgo de obesidad y enfermedades relacionadas. Por lo tanto, la recomendación de su consumo debe evaluarse de acuerdo a la persona a la que va dirigida.

e. Alimentos saludables controvertidos.

Araya, H. y Lutz, M. (2003), señalan que en este grupo se encuentran el vino y la cerveza, que provocan una gran discusión en cuanto a la recomendación que propende a un aumento de su consumo. Aunque contienen flavonoides y otros fitoquímicos saludables, el consumo de estas bebidas alcohólicas debe moderarse en países en que el alcoholismo es un riesgo para la salud, alimentos que mejoran las defensas: «Una sardina de 100 gramos contiene casi 5 veces más vitamina B6 que un bote de Actimel costando un 20% menos, alimentos para reducir el colesterol otra cosa es que hayan demostrado reducir el riesgo de problemas cardiovasculares.

f. **Propiedades benéficas de los Alimentos Funcionales Probióticos.**

Olagnero, O. (2007), menciona a continuación las propiedades benéficas de los alimentos funcionales probióticos que han sido observadas en diferentes estudios los cuales nos permiten observar que los probióticos tienen muchos beneficios y funciones adicionales para el beneficio del consumidor el cual le permite al mismo poder mejorar su estilo de vida las cuales son:

- Intolerancia a la lactosa: Olagnero, O. (2007), indica que el efecto probiótico se debería a una menor concentración de lactosa en el producto debido a la fermentación láctica y a que el probiótico tiene capacidad enzimática a través de un aumento en la actividad de la B-galactosidasa para suplir la deficiencia de lactasa del huésped.
- Efecto Inmune-modulador: Olagnero, O. (2007), indican que las Bacterias ácido lácticas en los alimentos funcionales deben ser capaces de inducir una inmune-estimulación a nivel de las mucosas y garantizar la ausencia de efectos colaterales tales como la translocación microbiana y la alteración de la permeabilidad intestinal debido a una respuesta inflamatoria exacerbada.
- Efecto gastro-protector: Olagnero, O. (2007), mencionan que diversos estudios pusieron en evidencia la efectividad de algunas especies del género *Lactobacillus* contra *H. pylori* entre las cuales podemos mencionar a *L. gasseri* OLL 2716, *L. acidophilus* DDS-1J, *L. casei* cepa *Shirota* y *L. casei* DN 114001. Una posible explicación del efecto antagónico sería que la inducción de prostaglandinas endógenas en respuesta a la producción de elevadas cantidades de ácido láctico en el estómago u otros mecanismos aún no descritos, actuarían como mecanismos de defensa.
- Actividad antagónica contra rotavirus: Olagnero, O. (2007), indican que algunas bacterias probióticas han demostrado ser benéficas en el tratamiento de diarrea aguda asociada a rotavirus, tales como *L. reuteri*, *L. rhamnosus*, *L. casei* y *Saccharomyces boulardii*, que disminuyeron significativamente el tiempo de duración de la misma.
- Prevención de reacciones alérgicas: Olagnero, O. (2007), nos dice que existe una relación directa entre la función del tejido linfóide que asociado al

intestino y la respuesta alérgica. Uno de los mecanismos primarios involucrados en este proceso podría ser la supresión celular activa responsable de los eventos pro-inflamatorios en el intestino, a través de la secreción de citoquinas supresoras.

- Regulación del tránsito intestinal: Olagnero, O. (2007), menciona que ciertas bifidobacterias probióticas (entre ellas *Bifidobacterium animalis* DN 173010) promueven la producción de ácido acético y otros ácidos orgánicos que estimulan la peristalsis y regulan el tránsito intestinal.

B. BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS.

1. Probióticos.

Castejón, E. (2012), menciona que un Probiótico es un suplemento alimentario que contiene microorganismos vivos que mejoran el equilibrio microbiano en el intestino de las personas o animales también en producto que contiene un número suficiente de microorganismos vivos unidades formadoras de colonia (UFC) el mismo que tiene un efecto beneficioso sobre la salud ayudando a mejorar el estilo de vida de la población, a través de una alteración positiva de la microbiota por colonización del intestino. Para que un organismo sea definido como probiótico este debe cumplir algunas características propias como ser habitante normal del intestino humano, no ser patógeno ni toxigénico, sobrevivir al medio ácido del estómago y efecto de la bilis en el duodeno, capacidad de adhesión a células epiteliales, adaptarse a la microbiota intestinal sin desplazar la microbiota nativa ya existente, producir sustancias antimicrobianas y tener capacidad para aumentar de modo positivo las funciones inmunes y las actividades metabólicas.

Cagigas, A. y Anesto, J. (2002), mencionan que los probióticos son aquellos microorganismos vivos en un medio donde puedan realizar su función de proliferación, al ser agregados como suplemento en la dieta, afectan en forma beneficiosa al desarrollo de la flora microbiana en el intestino estos también estimulan las funciones protectoras del sistema digestivo además son conocidos

como bio-terapéuticos, bio-protectores o bio-profilácticos y se utilizan para prevenir las infecciones entéricas y gastrointestinales.

Cagigas, A. y Anesto, J. (2002), indican que para que un microorganismo pueda realizar esta función de protección tiene que cumplir con los postulados de Huchetson: ser habitante normal del intestino, tener un tiempo corto de reproducción, ser capaz de producir compuestos antimicrobianos, bacterioxinas al igual que ácido láctico el cual combate a microorganismos patógenos y ser estable durante el proceso de producción, comercialización y distribución para que pueda llegar vivo al intestino.

2. Situación Actual.

Mendoza, K. (2015), señala que el mercado de los probióticos en el mundo está en plena expansión y presenta una de las mayores tasas de crecimiento dentro del mercado global de los "alimentos funcionales". Por ejemplo en el 2008, el mercado de consumo de alimentos probióticos fue de 11,4 millones de euros en Europa Occidental. En el Reino Unido, las ventas de yogur, kéfir y bebidas cultivadas representan las principales categorías de alimentos, con ventas estimadas en 700 mil dólares en el 2010, sólo de yogures; a su vez, el sector de la alimentación y nutrición en América Latina alcanzó ventas de alrededor de 3,67 mil millones de dólares en el 2003, de los cuales el 14,4% fueron los alimentos funcionales, en este contexto, Brasil y México son los mercados considerados de mayor potencial. Algunas estimaciones en el 2014 del mercado global de los probióticos fueron aproximadamente 32,6 billones de dólares, del cual Asia representaría el 42% y Europa el 20% del total de los ingresos generados por lo que es evidente que en el mundo de hoy, tanto para los consumidores, las industrias de alimentos y los centros de investigación existe un creciente interés por los probióticos.

3. Tipos de Probióticos.

Existen diferentes grupos de probióticos y hay grandes diferencias entre ellos.

a. Probióticos naturales.

CKotilainen, L. (2006), indica que están presentes en la alimentación de todos los días, pero no siempre lo sabemos. En forma natural, los probióticos se encuentran en lácteos fermentados como yogures, leche y quesos; vegetales fermentados - aceitunas, chucrut, soya, cereales-; productos cárneos y pescados fermentados; y bebidas alcohólicas artesanales. Las fórmulas de probióticos están disponibles con diferentes tipos de bacterias. De las cuales la más común es la *Lactobacillus acidophilus*. Pero como se dará cuenta más adelante, no todos los probióticos son iguales y no todas las fórmulas son producidas de manera adecuada como para brindarle óptimos beneficios. Estos microorganismos al ser naturales pueden ser ingeridos sin ningún inconveniente. Sin embargo, se requieren estudios científicos que garanticen la existencia de cepas probióticas entre la microflora láctica silvestre de los alimentos.

b. Probióticos comercializados.

CKotilainen, L. (2006), menciona que durante años, distintas poblaciones han consumido probióticos naturales en su dieta. La industria tomó nota de esta realidad y comenzó a comercializar los productos que contenían probióticos haciendo foco en ello —por ejemplo “Uno al día” de Soprole y “Chamyto”—. Es algo similar a lo que sucede con las formulaciones para lactantes, que tratan de emular la leche materna con el objetivo de generar el desarrollo de una microflora intestinal benéfica y así poder ayudar a las funciones normales del consumidor.

c. Suplementos alimenticios que contienen probióticos.

CKotilainen, L. (2006), indica que son suplementos dietarios que contienen probióticos en forma de cápsulas o en polvo. No es un medicamento y su distribución se rige por las leyes de los alimentos suplementos utilizados para la población infantil y adultos mayores, Pueden estar presentes en alimentos o ir incluidos en suplementos alimenticios.

d. Productos medicinales o agentes bio-terapéuticos.

CKotilainen, L. (2006), nos dice que es un probiótico con un efecto terapéutico probado; es decir, es un medicamento. El uso de probióticos en medicina se conoce también con el nombre de “bio-terapia”. Se llaman probióticos los organismos que en forma viva procuran beneficios para los seres en los que viven. En primer lugar se trata de bacterias, en menor grado hongos, que viven en los estómagos y los intestinos de animales, incluidos los humanos. Los agentes bio-terapéuticos son microorganismos que tienen un efecto demostrado. Para ser eficaces deben:

- Ser resistentes a la gran mayoría de los antibióticos que se usan comúnmente.
- Tener efectos terapéuticos inmediatos.
- Tener efectos múltiples.

CKotilainen, L. (2006), asegura que Inhibe la adhesión de los patógenos además del control de microorganismos patógenos ayudando así al consumidor, efectos de inmune-modulación, competencia con las toxinas por los receptores de éstas y, por supuesto, competencia por los nutrientes.

4. Selección de cepas probióticas para su utilización en seres humanos.

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO. 2011) y Organización mundial de la salud. (OMS. 2001), mencionan que los probióticos deben poder ejercer sus efectos beneficiosos en el huésped mediante su crecimiento y/o actividad en el cuerpo humano así pudiendo mejora la calidad de vida del consumidor beneficiándose del mismo. Collins, J. (1998), explica lo que importa es la especificidad de la acción, y no la fuente del microorganismo.

De hecho, es muy difícil confirmar la fuente de un microorganismo. Cuando nacen, los niños no tienen ninguna de estas bacterias en el intestino por lo que es importante brindarles alimentos con probióticos y así aumentar si flora intestinal, y

no se ha aclarado totalmente el origen de la microflora intestinal. Es la capacidad de seguir siendo viable en el lugar de destino y de ser eficaz lo que debería verificarse para cada cepa potencialmente probiótico.

5. Clasificación e identificación de las distintas cepas.

FAO y OMS. (2001), indican que la clasificación es la ordenación de los organismos en grupos taxonómicos (taxones) basados en semejanzas o relaciones. La nomenclatura es la asignación de nombres a los grupos taxonómicos con arreglo a unas normas. La identificación es el proceso por el que se determina que una nueva cepa aislada pertenece a uno de los taxones establecidos a los que se ha asignado un nombre, La bacteria "buena" que hay en su sistema gastrointestinal sólo puede proveerlo de una salud óptima si se mantiene el balance adecuado de los diferentes tipos de bacterias que hay en su intestino.

FAO y OMS. (2001), recomiendan que se asignaran nombres a los probióticos de conformidad con el Código Internacional de Nomenclatura para asegurar la comprensión a nivel internacional. La Consulta instó firmemente a que, con miras a su plena divulgación, las cepas probióticas se depositaran en una colección de cultivos reconocida internacionalmente esto dado que las propiedades probióticas están relacionadas con las cepas, se propone que la identificación de las cepas (tipificación genética) se lleve a cabo utilizando métodos tales como la electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE). Se recomienda que se realicen primero ensayos fenotípicos, seguidos de la identificación genética mediante métodos tales como la hibridación de ADN con ADN, la determinación de secuencias del ARN 16S u otros métodos reconocidos internacionalmente.

6. Definición y medición de los beneficios de los probióticos para la salud.

FAO y OMS. (2001), indican que la utilización de probióticos lleva aparejados diversos efectos en la salud. Hay datos que demuestran en diversos grados la verificación de tales efectos, y la Consulta reconoció que hay informes que indican

que ciertas cepas probióticas no tienen efectos clínicos en situaciones específicas Andersson, H. (2001), menciona que aunque un examen riguroso de cada una de estas cuestiones quedaba fuera del ámbito de acción de la Consulta, se intentó proporcionar directrices sobre los parámetros a fin de medir los beneficios para la salud.

FAO y OMS. (2001), mencionan que cuando se utilizan microorganismos probióticos a fin de conferir al huésped beneficios para la salud deben indicarse los regímenes de dosificación y duración recomendados por el fabricante de cada cepa o producto sobre la base de datos científicos y según lo aprobado en el país donde se vende. Aunque en la actualidad ésta no es la práctica habitual, la Consulta recomendó firmemente que se indicara la cantidad mínima diaria de cada producto necesario a fin de que éste confiera beneficios específicos para la salud. Estos datos deberían, siempre que sea posible, ser el resultado de estudios in vitro, en animales (cuando sea pertinente) y en seres humanos. La bacteria "buena" que hay en su sistema gastrointestinal sólo puede proveerlo de una salud óptima si se mantiene el balance adecuado de los diferentes tipos de bacterias que hay en su intestino. Más adelante se citan ejemplos para ilustrar estudios sobre cepas específicas y resultados clínicos. Para ello, no debería hacerse hincapié en una cepa concreta considerada superior a otra, sino en la suma importancia de los beneficios conferidos y de los métodos utilizados para obtener y medir dichos beneficios. Martínez, C. Peláez, C. y Requena, T. (2012), indican que el efecto saludable de los probióticos debe estar demostradas en evidencias científicas que se han generado en ensayos clínicos. Así, se han obtenido evidencias que permiten establecer que ciertas cepas probióticas son efectivas en la mejoría de la salud intestinal y en la modulación del sistema inmune.

7. Especie *Lactobacillus casei* con potencial probiótico.

Hogg, M. (2014), menciona que el *Lactobacillus casei* es una especie de la bacteria *Lactobacillus*. Esta bacteria específica se encuentra en la boca y en el intestino de los seres humanos. Es un microorganismo beneficioso, ayuda a promover otras

bacterias y evita el crecimiento de bacterias patogénicas en el cuerpo humano. Específicamente, promueve el crecimiento de la bacteria *Lactobacillus acidophilus*.

a. Significado.

Hogg, M. (2014), indica que el *Lactobacilos casei* es considerado benéfica para el proceso digestivo por un número de razones. En primer lugar, tiene un amplio rango de temperatura y de PH, lo que significa que puede soportar el ambiente ácido del intestino. También promueve el *L. acidophilus*, que produce la enzima amilasa. Esta enzima asiste al cuerpo en la digestión de hidratos de carbono, que pueden ayudar a evitar condiciones como la constipación y el síndrome de intestino irritable, según un estudio realizado por el Laboratorio Reading de Inglaterra.

b. Función.

Samaniego, L. y Sosa del Castillo, M. (2014), indican que los probióticos están destinados a mejorar la población de bacterias beneficiosas intestinales que se encuentran en el intestino, ya que promueven su desarrollo, evitan que otras bacterias dañinas se implanten y ejerzan sus funciones negativas, el *Lactobacilos casei* se utiliza comúnmente en la fabricación de productos lácteos. A menudo se utiliza, por ejemplo, como bacteria de ácido láctico en la maduración de quesos como el cheddar y en la fermentación de aceitunas sicilianas. También se encuentra en quesos suaves fermentados naturalmente y en el yogur, ayuda a la inhibición y control de microorganismo patógenos, Los probióticos son microorganismos vivos que, al ser administrados en cantidades adecuadas, brindan beneficios de salud a quien los consume, deben ser especies bacterianas que existen naturalmente en la flora intestinal humana.

c. Marco de tiempo.

Samaniego, L. y Sosa del Castillo, M. (2014), mencionan que en el año 2007, estudios realizados por la Universidad de Reading, en el Reino Unido, demostraron

que el *L. casei* sobrevive bien en el tracto gastrointestinal humano por un tiempo determinado pero logrando un beneficio al consumidor. Esto significa que es resistente al ácido láctico y a la bilis y puede beneficiar todo el tracto digestivo. Está disponible en yogures bebibles como el Yakult y el Actimel. *L. casei* no reside permanentemente en el intestino, pero permanece en él durante 10 días posteriores a su consumo.

d. Suplementos con probióticos.

Samaniego, L. y Sosa del Castillo, M. (2014), puntualizan que no todas las cepas de *Lactobacilos casei* tienen los mismos beneficios, así que debes revisar la etiqueta, el nombre de una cepa de bacterias que ha resultado ser tan efectiva es *Lactobacillus casei* es sumamente importante, existen otras cepas muy buenas como la de *Lactobacillus acidophilus* en el mercado pero sus específicamente o sus beneficios potenciales para la salud podrían ser menor.

8. Microorganismos probióticos en productos no lácteos sin fermentación.

Rodgers, S. (2007), indica que los probióticos han sido utilizados principalmente en los productos lácteos sin embargo otros alimentos han sido examinados recientemente incluyendo la mayonesa, comestibles para untar, carne, queso, jugos de frutas, helados de crema, productos a base de avena, entre otros gran parte de su aplicación es enfocada en la industria láctea, sin embargo estos tipos de productos a base de leche poseen ciertas inconvenientes por su contenido de lactosa y grasas a un porcentaje de la población.

Heenan, C. (2004), indica que por esta razón se han buscado otros tipos de alimentos como son las frutas y vegetales. Para el caso de los jugos de fruta, Tuorila, H. y Cardello, A. (2002), sugieren como un medio apropiado para fortificarlo con probióticos, debido a su ya reconocido beneficio para la salud y su frecuente consumo por un gran porcentaje de la población. Sin embargo, se ha reportado la presencia de aromas y sabores indeseable conocidos como el “off-flavours” para el

caso del *Lactobacillus plantarum* al ser adicionado a jugos de naranja, prefiriendo el consumidor las características sensoriales convencionales del jugo a su contraparte funcional, con la diferencia que si es dado a conocer la información de los efectos beneficiosos a la salud, se incrementa la preferencia al jugo funcional por encima del convencional. Luckow, T. y Delahunty, C. (2006), comenta que en otro estudio se reporta que la adición de un 10% v/v de jugo de fruta tropical puede enmascarar los sabores indeseables causados por los probióticos.

Estudios realizados por Sheehan, V. (2007), nos muestra que hay una amplia diferencia respecto a la resistencia a la acidez de las *bifidobacterium* con respecto a los *Lactobacillus* cuando son agregados a jugos de naranja, piña y arándano. Las cepas adicionadas al jugo de naranja y piña sobrevivieron por más tiempo comparado con el de arándano; el *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*.

C. PULPA DE FRUTAS.

1. Pulpa.

Pablo, F. y Herrera, G. (2014), define a la pulpa como la parte comestible de las frutas o el producto obtenido de la separación de las partes comestibles carnosas de estas mediante procesos tecnológicos adecuados. Además, es el producto pastoso, no diluido, ni concentrado, ni fermentado, obtenido por la desintegración y tamizado de la fracción comestible de frutas frescas sanas, maduras y limpias, durante este proceso de extracción de las pulpas se utilizan diferentes técnicas, entre las cuales se destaca la congelación; la pulpa de frutas presenta ventajas sobre las frutas frescas y sobre otro tipo de conservas, La pulpa es un tejido celular vegetal cuyo objetivo es mejorar la dispersión de las semillas. La pulpa de los diferentes tipos de frutas y verduras juega un papel importante en la nutrición de los consumidores, la pulpa también es la parte comestible de las frutas o el producto obtenido de la separación de las partes comestibles carnosas de estas mediante procesos tecnológicos adecuados. Además, es el producto pastoso, no diluido, ni concentrado, ni fermentado, obtenido por la desintegración y tamizado de la fracción comestible de frutas frescas, sanas, maduras y limpias.

2. El Sector de Jugos y Conservas de Frutas.

Ministerio de industrias y productividad. (MIPRO. 2011), indica que dentro de la agroindustria, un sector importante es la elaboración de jugos y conservas de frutas. Estos sectores, se han desarrollado en los últimos años gracias al gran potencial que posee el Ecuador como productor de materias primas agrícolas. Ya que el Ecuador es un país muy diverso en materia prima y así se puede aprovechar esta área y poder realizar todo tipo de alimentos con la innovación de nuevos productos. A partir de esta sección, el análisis se centrará en el sector de alimentos y bebidas, y más específicamente, en el de jugos y conservas de frutas.

3. Sector de conservas.

MIPRO. (2011), nos dice que la agroindustria, categoría que agrupa a la industria de alimentos procesados y otra clase de productos elaborados en base a materias primas agrícolas, representa el 4.5% del Producto Interno Bruto (PIB) nacional, según datos registrados en el 2007, por el Banco Central del Ecuador, dentro de los factores internos, que han permitido que el sector se desarrolle, están el alto potencial agrícola, debido a la diversidad de climas y suelos que facilitan el cultivo de productos de este tipo; materia prima fundamental para la elaboración de alimentos y bebidas, beneficia a los países exportadores de alimentos procesados, como es el caso de Ecuador, y constituido por empresas locales procesadoras de frutas y vegetales que proveen al mercado interno y externo; donde una de las ventajas competitivas del país son sus precios.

MIPRO. (2011), menciona que el sector de las conservas se constituye por empresas locales procesadoras de frutas y vegetales en conserva tanto para el mercado nacional como internacional. Estas empresas se basan en ventajas competitivas como la alta diversidad de la materia prima debido a la favorable ubicación geográfica del Ecuador, y los precios competitivos de las mismas. No obstante, los problemas que se presentan tienen que ver con la calidad y con la capacidad de abastecer al mercado. Uzcátegui. (2007), dice que para la fabricación

de conservas, ya que los encadenamientos productivos también son amplios, comenta que el volumen de ventas al 2005, las empresas productoras más importantes a nivel nacional son las siguientes: (Cuadro 3).

Cuadro 3. PRINCIPALES EMPRESAS PRODUCTORAS DE FRUTAS EN CONSERVA.

Ranking	Empresa	Ventas 2005
1	Proverfrut S.A.	\$ 24.591.246
2	Tropifrutas S.A.	\$ 11.412.174
3	IAGSA S.A.	\$ 8.310.152
4	Expropalm S.A.	\$ 5.454.311
5	Futurcorp S.A.	\$ 3.457.841
6	Ata Hortícola Aml	\$ 426.596
7	Trial Mercantil Cía	\$ 371.257
8	Cazahed Cía Ltda	\$ 239.886
9	Eagropeas S.A.	\$ 65.652
10	Cias Ecuatoriana	\$ 39.456

Fuente: Uzcátegui. (2007).

D. GUANÁBANA.

1. Annona muricata.

Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. (INIAP. 2014), nos habla de las 60 o más especies del género *Annona*, de la familia Annonaceae, la guanábana, *A. muricata* L., es el árbol más tropical, con la fruta más grande y a su vez más susceptible a la conservación y procesamiento, que tiene el fruto muy popular en el Sur de América.

2. Descripción.

Moreu, M. (2012), nos dice que es un fruto verde claro, similar a un mango, al menos en la forma, pero con la diferencia que tiene espinas, y que cuando madura, se vuelve verde oscuro, como si fuera un enorme aguacate pero su fruto es más bien blanco, con semillas negras, su sabor es muy dulce, y que comido en exceso suele ser empalagoso. El árbol de guanábana es de ramas caídas, bajas y delgadas, y alcanza una altura de 25 o 30 pies (7.5 - 9 m). Las hojas de fuerte olor, algo desagradable son normalmente perennes, alternas, lisas, brillantes, de color verde oscuro en la superficie superior, y más claras por la inferior, oblongas y elípticas de 2 1/2 a 8 pulgadas (6.25 - 20 cm) de largo y 1 a 2 1/2 pulgadas (2.5 - 6.25 cm) de ancho.

Moreu, M. (2012), las flores son simples y pueden surgir en cualquier lugar en el tronco, ramas o ramillas. Son de corto peciolo, 1 1/2 a 2 pulgadas (4 a 5 cm) de largo, regordetas, y triangular-cónicas, de 3 pétalos externos algo anchos y carnosos de color amarillo-verdoso y tres pétalos más estrechos interiores de color amarillo pálido.

Moreu, M. (2012), se debemos evitar el cortar las guanábanas cuando están tiernas ya que una guanábana tierna no madurara bien y su sabor será amargo y nada agradable, el fruto es más o menos ovalado o en forma de corazón, pero a veces

irregular, asimétrico o curvo, debido al desarrollo anormal del fruto por lesiones de insectos. El tamaño varía de 4 a 12 pulgadas (10 - 30 cm) de largo y hasta 6 pulgadas (15 cm) de ancho, y el peso puede estar entre 10 y 15 libras (4.5 - 6.8 kg).

Moreu, M. (2012), la fruta está cubierta con una piel coreácea, delgada, reticulada, no comestible, de la que surgen desde pocas, hasta muchas protuberancias finas curvadas y blandas que semejan espinas. Estas protuberancias se van haciendo más cortas a medida que la fruta madura, se considera la guanábana como un agente anti-microbial de ancho espectro, contra las infecciones bacterianas y hongos; eficaz para combatir desórdenes nerviosos, parásitos y gusanos; actúa como reguladora de la tensión arterial alta y es antidepresiva.

Moreu, M. (2012), la piel se rompe fácilmente cuando la fruta está madura, es verde oscuro en la fruta inmadura, convirtiéndose a ligeramente amarillento-verde cuando madura, es suave al tacto. Su superficie interior es de color crema y granular y se separa fácilmente de la masa interior de color blanco nieve, fibrosa, jugosa y más o menos segmentada alrededor del núcleo central. El aroma de la pulpa es típico y algo similar a la piña, de sabor ácido-sub ácido y único. La mayoría de los segmentos de la fruta contienen semillas. En cada segmento fértil existe una única semilla ovalada, lisa y dura, de color negro de $\frac{1}{2}$ a $\frac{3}{4}$ pulgadas (1,25 - 2 cm) de largo, Una fruta puede contener desde unas pocas docenas a 200 o más semillas.

3. Usos como alimento.

Francisco, J. y Rodríguez, M. (2010), nos dice que la pulpa del fruto con leche o agua y se agrega azúcar, para luego servirla colada y muy fría. Si se usa una batidora eléctrica, primero hay que tener cuidado de quitar todas las semillas, ya que son algo tóxicas, y ninguna debe romperse e ir a para accidentalmente al jugo.

Francisco, J. y Rodríguez, M. (2010), en muchas partes se producen comercialmente de la pulpa de la guanábana; helados, sorbetos, jaleas, tortas, néctares y refrescos.

También se vende la pulpa congelada envasada en bolsas plásticas.

Agencia universitaria de periodismo científico. (AUPEC. 2016), comentan que del uso de la pulpa de la guanábana, según un estudio realizado en la Universidad del Valle por el de la semilla se puede extraer aceite luego de someterla a un proceso de secado y molienda, en la cromatografía de gases para análisis de grasas se encontró que la semilla es muy rica en ácido oleico y en ácido linoleico, nutricionalmente importantes en la dieta alimenticia para humano.

Francisco, J. y Rodríguez, M. (2010), nos dicen que la pulpa de la pulpa de la fruta puede consumirse en jugo o en agua y suele ser diurética, las hojas se pueden consumir en té al igual que la corteza del árbol, las semillas pulverizadas sirven como repelente de insectos untándoselas en la piel, el agua de las hojas de la guanábana también está indicado contra los piojos, es muy importante tener en cuenta que la guanábana a pesar de ser de un sabor agradable, se aprovecha mejor cuando es tomado como tratamiento para combatir el cáncer.

Francisco, J. y Rodríguez, M. (2010), nos dice que la pulpa de la guanábana esta constituida principalmente por agua; además proporciona sales minerales, potasio, fósforo, hierro, calcio, lípidos, tiene un alto valor calórico debido a la presencia de hidratos de carbono; además es rica en vitamina C y provitamina A, así como de vitamina B, la pulpa del fruto se aplica en forma de cataplasma sobre las heridas, sin cambiarla durante 3 días, lo que favorece su rápida cicatrización. Se cree que la guanábana tiene poderosos efectos anti- tumorales y anti- cancerigenos, por lo que se le recomienda para prevenir y curar todo tipo de cáncer. De manera general, los pacientes deben consumir la fruta directamente o en forma de jugo con regularidad, en la curación puede emplearse el siguiente remedio: se hierven 10 hojas verdes de guanábana en 3 tazas de agua dejando evaporar hasta que solo quede una taza del líquido. Se debe tomar como mínimo una taza de esta sustancia dos veces al día, los efectos de este remedio, que se observarán a las dos semanas, son similares a los de la quimioterapia, con la diferencia de que el método natural elimina las células enfermas y no perjudica las células sanas, (Cuadro 4).

CUADRO 4. VALOR ALIMENTICIO POR 100 G DE PORCIÓN COMESTIBLE

Calorías	61.3-53.1
Humedad	82.8g
<u>Proteína</u>	1.00g
<u>Grasa</u>	0.97g
<u>Hidratos de carbono</u>	14.63g
<u>Fibra</u>	0.79g
Ceniza	6.0g
<u>Calcio</u>	10.3 mg
<u>Fósforo</u>	27.7 mg
<u>Hierro</u>	0.64 mg
<u>Vitamina A (B-caroteno)</u>	0 0
<u>Tiamina</u>	0.11 mg
<u>Riboflavina</u>	0.05 mg
<u>Niacina</u>	1.28mg
<u>Ácido Ascórbico</u>	29.6 mg
<u>Amino ácidos:</u>	
Triptófano	11 mg
Metionina	7 mg
Lisina	60mg

Los análisis realizados en el Laboratorio de Nutrición FIM, La Habana, Cuba.

III. MATERIALES Y MÉTODOS.

A. LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN DEL EXPERIMENTO:

1. Localización.

La presente investigación se desarrolló en el laboratorio de Alimentos de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, ubicada en el Km 1½ de la Panamericana Sur en el cantón Riobamba, provincia de Chimborazo.

2. Condiciones meteorológicas.

Cuadro 5. CONDICIONES METEOROLÓGICAS.

Condiciones meteorológicas	Promedios
Temperatura promedio	13,5 °C
Humedad relativa	67,6 %
Precipitación, mm/año	170,17

Fuente: Estación Meteorológica de la Facultad de Recursos Naturales. (2015).

3. Duración.

El presente trabajo tuvo una duración de 60 días.

B. UNIDADES EXPERIMENTALES.

El número de unidades experimentales que conformaron el presente trabajo experimental fue de 16 Kg de fruta. Las mismas que serán adquiridas en el mercado municipal de la ciudad de Santo Domingo de los Colorados provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas.

Se utilizaron 12 unidades experimentales conformadas cada una por $1/2$ Kg. de pulpa de fruta de guanábana con adición de distintos niveles de un cultivo probiótico.

C. MATERIA PRIMA, MATERIALES, EQUIPOS, E INSTALACIONES.

1. Materia Prima.

- Fruta Guanábana
- Probiótico (*Lactobacilos casei*).

2. Materiales.

- Fundas
- Envases plásticos
- Vasos plásticos
- Códigos
- Bandejas
- Paletas
- Lápices y esferos
- Hojas de cata
- Matraces volumétricos
- Pipetas volumétricas
- Espátula
- Pinza
- Varilla de vidrio
- Pízetas
- Probeta graduada
- Reloj
- Vaso de precipitación

- Bureta

- Matraz
- Para film.

3. **Equipos.**

- Despulpadora
- Selladora al vacío
- Estufa
- Balanza analítica
- Termómetro
- pH metro (Hanna)
- Refractómetro
- Autoclave
- Incubadora
- Selladora
- Computador
- Refrigerador
- Congelador.

4. **Reactivos.**

- Ácido Cítrico
- Sodio hidróxido 0,1 N
- Fenolftaleína
- Agua destilada
- Desinfectante.

5. **Medios de cultivo.**

- Agar PCA (Aerobios mesófilos)
- Agar PDA (Mohos y levaduras)

- Agar MRS (Bacterias {acido lácticas})
- Placas Petri (Coliformes totales).

6. Instalaciones.

- Laboratorio de microbiología de los Alimentos.
- Laboratorio de alimentos

D. TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL.

Se valoró el efecto de los diferentes niveles de probiótico *Lactobacillus casei* al (0,5, 1%, 1,5%) en la elaboración de la pulpa de fruta de guanábana. Se contó con 3 tratamientos experimentales (Cuadro 6) y cada una de ellos con 4 repeticiones que fueron distribuidos bajo un diseño completamente al azar, ajustados al siguiente modelo lineal aditivo:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}$$

En donde:

Y_{ij}	Variable experimental
μ	Media general
T_i	Efecto del tratamiento (los niveles de S.I.)
ϵ_{ij}	Efecto del error experimental.

Cuadro 6. ESQUEMA DEL EXPERIMENTO:

Código	T.U.E	Repeticiones	Total (trat./rep.)
--------	-------	--------------	--------------------

0% Sin <i>Lactobacillus casei</i>	T0	1	4	4
0,5% <i>Lactobacillus casei</i>	T1	1	4	4
1% <i>Lactobacillus casei</i>	T2	1	4	4
1,5% <i>Lactobacillus casei</i>	T3	1	4	4
			Total	16

T.U.E: Tamaño de la Unidad Experimental, 1Kg.

E. MEDICIONES EXPERIMENTALES.

Las variables experimentales que se evaluaron fueron las siguientes:

1. Análisis físico-químico.

- °Brix, (0,4,8,12,16,20,24,28,32,36,40,44,48,52,56,60 días).
- pH, (0,4,8,12,16,20,24,28,32,36,40,44,48,52,56,60 días).
- Acidez (°Dornic), (0,4,8,12,16,20,24,28,32,36,40,44,48,52,56,60 días).

2. Análisis organoléptico.

- Color (Puntos)
- Olor (Puntos)
- Sabor (Puntos)
- Textura (Puntos)
- Carácter apetecible (Puntos).

3. Análisis microbiológico.

- Aerobios mesófilos totales (UFC/ml), (0,4,8,12,16,20,24,28,32,36,40,44,48,52,56,60 días).
- Levaduras y mohos (UP/ml), (0,4,8,12,16,20,24,28,32,36,40,44,48,52,56,60 días).
- Bacterias ácido lácticas (BAL) (UFC/ml), (0, 15, 30, 45, 60 días).
- Coliformes totales (NPM/ml), (0, 60 días)

4. Vida de anaquel.

- Prueba de vida útil

5. Económico.

- Beneficio Costó.

F. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS Y PRUEBAS DE SIGNIFICANCIA.

Los resultados fueron sometidos a los siguientes análisis:

- Análisis de Varianza.
- Separación de medias según Tukey ($P < 0.05$).
- Análisis de regresión y correlación en las variables que existan diferencias estadísticas.

1. Esquema del ADEVA.

El esquema de análisis de varianza que se utilizó para el desarrollo de la presente investigación que se detalla a continuación en el (Cuadro 7).

Cuadro 7. ANÁLISIS DE LA VARIANZA (ADEVA).

FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD
---------------------	--------------------

Total	15
Entre método	3
Error	12

G. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL (en orden de ejecución).

Dependiendo de su uso final, las frutas y hortalizas frescas fueron sometidas a diversos procesos industriales, resumidos a continuación (Ministerio de Agricultura, 2005):

Elaboración de pulpa de guanábana con adición de probióticos:

- Pulpas de Frutas: Se empleó 1 tipo de pulpa de fruta pasteurizadas y congeladas a -20°C del trabajo a realizarse. Que correspondieron a: Guanábana.
- Cultivo Láctico: Se utilizó un cultivo probiótico comercial liofilizado, correspondiente a la cepa pura La-14 10B (*Lactobacillus casei*) de la compañía Descalzi ®, certificado por la empresa como probiótico, el cual se encontraba en su presentación comercial conservado a -20°C hasta su utilización. La ficha técnica de este producto presenta en el Anexo 01 (DESCALZI, 2013).
- Limpieza y preparación preliminares.
- Limpieza e inspección.
- Trozado, deshuesado, eliminación de fallas y corte: La materia prima (guanábana) fue troceada en tamaños específicos; los sobrantes pueden usarse o descartarse. Esta etapa se realizó en forma manual. El deshuesado, eliminación de semillas y cortado, fueron procesos mecánicos.
- Pelado: La remoción de la cáscara fue manual, física.

- Preparación y transporte: Antes de entrar al proceso final, los productos fueron inspeccionados para asegurar la calidad.
- Escaldado: Esta etapa se expuso el producto a una alta temperatura por un período breve y posterior enfriamiento. Se utiliza agua caliente para frutas. El principal propósito de este proceso fue inactivar o retardar la acción de bacterias y enzimas que provocan una rápida pérdida de calidad.
- Pulpado y colado: Se efectuó mediante una maquina extractora de la pulpa de fruta y consiste en la molienda de la fruta.
- Pasteurización: Este proceso se lo realizo de una forma rápida y efectiva y así no perder propiedades de la fruta (guanábana).
- Mezclado e incorporación de aditivos: En esta etapa se realizó la adición de aditivos además de la incorporación del probiótico (*Lactobacilos casei*) esta incorporación se la realizo de una forma similar a un inoculado.
- Inspección final y envasado: El proceso de envasado se la realizo al vacío así para eliminar todo tipo de microorganismo aerobios que pueda adulterar la pulpa de guanábana.
- Almacenamiento: Se colocó la pulpa de guanábana a temperaturas de congelación a -20°C para obtener así un producto aún más inocuo y libre de microorganismos patógenos.

H. METODOLOGÍA DE EVALUACIÓN.

La investigación se realizó en la planta de Procesos de Alimentos de la Facultad de Ciencias Pecuarias, donde se desarrolló la pulpa de guanábana funcional.

Se utilizó 12 unidades experimentales conformada cada una por 1/2 Kg. de pulpa de guanábana con adición de distintos niveles de un cultivo probiótico, la parte microbiológica se desarrolló en el laboratorio de microbiología de los alimentos de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo – Riobamba.

1. Determinación de azúcares °Brix.

- Aplicación: Es indispensable en la industria de bebidas en la industria de bebidas y zumos Informe de aplicación como zumos puros concentrados, jarabes o azúcar líquido. Y también durante la producción, el control y el ajuste.
- Procedimiento:
 - Para efectuar una medición se agregó al prisma del brixometro una pequeña cantidad de la pulpa de muestra utilizando una pipeta.
 - Operando el dispositivo a través de la pantalla táctil se inició la medición.
 - La medición finalizará en aproximadamente 2 s.
 - Escribir el dato del brixometro en la “Planilla de monitoreo de producto en proceso.
 - La muestra se retira del prisma del con agua destilada a continuación, se limpia cuidadosamente.

2. Determinación de pH

- Aplicación: Productos en proceso y productos terminados.
- Procedimiento:
 - Colocar 25 ml del producto en un vaso de precipitación una vez descongelado
 - Encender el equipo e introducir el electrodo del pH-metro en la solución búfer. Dejar estabilizar la lectura, aproximadamente por 2 minutos.
 - Leer el dato que indica el equipo.
 - Al terminar la operación, lavar el electrodo con agua destilada, con la ayuda de la pízeta.
 - Escribir el dato del pH-metro en la “Planilla de monitoreo de producto en proceso”.
 - Apagar el equipo a la posición "Off".

3. Determinación de Acidez °Dornic.

Existen diferentes grupos de probióticos y hay grandes diferencias entre ellos.

- Aplicación: El método es aplicable a concentrados, jarabes, mermeladas y zumos cuya materia prima predominante sean frutas.
- Procedimiento:
 - El procedimiento se realiza con un equipo de titulación que consiste en un acidómetro, un vaso de precipitado o matraz Erlenmeyer.
 - Se toma la muestra y se diluye en una cantidad de agua 5 veces mayor.
 - Se adicionan tres o cuatro gotas de fenolftaleína (o colorante) y se comienza a titular, dejar caer gota a gota del agente titulante (hidróxido de sodio), sobre el titulado) hasta obtener un ligero vire a rosa (en el caso de la fenolftaleína) que dure 15 segundos cuando mínimo. Si es muy oscuro, la titulación ha fracasado.
 - Se mide la cantidad de agente titulante gastado (o gasto de bureta) y se utiliza la normalidad de la sustancia.
 - Calcular con la siguiente formula.

%Acidez:

$$A = \frac{V * N * Fa}{Vo} (Eq)$$

°Dornic:

$$A * 100$$

Donde:

A= acidez de la muestra

Fa= factor del ácido respectivo (0,064 para el ácido cítrico)

V= volumen en mL de NaOH utilizado

N= Normalidad del NaOH

f= factor del NaOH

Vo= alícuota en mL de la muestra

4. Evaluación sensorial.

Se utilizó una escala hedónica de cinco puntos siendo los parámetros de: sabor, color, olor textura y aceptabilidad que fueron calificados **5: Excelente 4: Muy bueno 3: Bueno 2: Regular 1: Malo**, con un panel de 24 jueces semi-entrenados para determinar cuál de las pulpas con diferentes niveles de probióticos es el más agradable para los consumidores. El test dado a los jueces presenta una descripción verbal de la sensación al momento de probar las muestras. El formato de cuestionario para la prueba hedónica se presenta en el anexo 2.

5. Determinación de la muestra y disoluciones

- **Procedimiento para la obtención de muestra:**
 - Tomar la muestra en condiciones asépticas.
 - Para ello se pueden emplear recipientes previamente esterilizados.
 - Se procede a descongelar la pulpa de guanábana para realizar las disoluciones:(-2) para mohos y levaduras, (-3) para aerobios mesófilos, bacterias ácido lácticas y coliformes totales.
 - Si transcurre un tiempo entre la toma de muestra y el análisis, se mantendrá la muestra en refrigeración.

- Realizar una serie de diluciones decimales seriados:
 - En tubos de ensayo ya auto clavados colocar 9 ml de agua de peptona.
 - Colocar 1 ml de muestra de pulpa de guanábana en los tubos de ensayos anteriores y obtener la primera disolución (-1).

- En función de la carga microbiana esperada en el alimento se realizan las diluciones que se crean convenientes (-2), (-3).
- Preparación del agua peptonada:
 - Referirse a la etiqueta del envase para cantidades y volúmenes requeridos.
 - Pesar la cantidad de medio y rehidratarlo con agua destilada en un frasco termo resistente y homogenizar.
 - Auto clavar el frasco termo resistente con agua peptonada sin cerrar totalmente el tapón de rosca.
 - Sacar de la autoclave.
 - Distribuir el medio en los tubos de ensayo auto clavados según las diluciones que se realice.

6. Determinación de Aerobios mesófilos.

- Aplicación: En este tipo de análisis, se utiliza para monitorear si el proceso se aplicó Buenas Prácticas de Manufactura. El recuento refleja: contenido microbiano de materiales crudos e ingredientes, la eficiencia del procedimiento de elaboración / proceso, la condición de higiene del equipo y utensilios y la relación tiempo - temperatura de almacenamiento y distribución.
- Procedimiento:
 - Referirse a la etiqueta del envase para cantidades y volúmenes requeridos.
 - Pesar la cantidad de medio y rehidratarlo con agua destilada en un frasco termo resistente y homogenizar.
 - Auto clavar el frasco termo resistente con agar PCA sin cerrar totalmente el tapón de rosca.
 - Sacar del autoclave, enroscar del todo el tapón.

- Distribuir el medio en las cajas de Petri auto clavadas dentro de una campana de flujo laminar o en las proximidades del mechero, flameando bien la boca de la botella para evitar las contaminaciones.
- Dejar que el medio solidifique.
- Sembrar con una pipeta de 1ml la disolución (-3) y colocar en la caja Petri.
- Agitar para que la disolución se riegue por toda la caja Petri y voltear.
- Cubrir con cinta para film la caja Petri, codificar y dejar en la estufa por dos días a una temperatura de 37 a 40° C.
- Realizar el conteo respectivo de las UFC.

7. Determinación de Mohos y levaduras.

- Aplicación: Permite un monitoreo rápido y fácil de levaduras y mohos en alimentos y bebidas, durante la trazabilidad del proceso que al alimento ha sufrido dentro de producción, procesamiento, distribución, etc.
- Procedimiento:
 - Referirse a la etiqueta del envase para cantidades y volúmenes requeridos.
 - Pesar la cantidad de medio y rehidratarlo con agua destilada en un frasco termo resistente y homogenizar.
 - Auto clavar el frasco termo resistente con agar PDA sin cerrar totalmente el tapón de rosca.
 - Sacar del autoclave, enroscar del todo el tapón.
 - Distribuir el medio en las cajas de Petri auto clavadas dentro de una campana de flujo laminar o en las proximidades del mechero, flameando bien la boca de la botella para evitar las contaminaciones.
 - Dejar que el medio solidifique.
 - Sembrar con una pipeta de 1ml la disolución (-2) y colocar en la caja Petri.
 - Agitar para que la disolución se riegue por toda la caja Petri y voltear.
 - Cubrir con cinta para film la caja Petri, codificar y dejar en la estufa por dos días a una temperatura de 37 a 40° C.

- Realizar el conteo respectivo de las UP.

8. Determinación de Bacterias ácido lácticas.

- Aplicación: Las bacterias juegan un papel fundamental en la industria y permiten desarrollar importantes progresos en fisiología celular y en genética, y esta técnica nos permite monitorear el progreso que tiene las bacterias ácido lácticas durante su desarrollo en productos con adición de bacterias ácido lácticas.
- Procedimiento:
 - Referirse a la etiqueta del envase para cantidades y volúmenes requeridos.
 - Pesar la cantidad de medio y rehidratarlo con agua destilada en un frasco termo resistente y homogenizar.
 - Auto clavar el frasco termo resistente con agar MRS sin cerrar totalmente el tapón de rosca.
 - Sacar del autoclave, enroscar del todo el tapón.
 - Distribuir el medio en las cajas de Petri auto clavadas dentro de una campana de flujo laminar o en las proximidades del mechero, flameando bien la boca de la botella para evitar las contaminaciones, dejar que el medio solidifique.
 - Sembrar con una pipeta de 1ml la disolución (-3) y colocar en la caja Petri.
 - Agitar para que la disolución se riegue por toda la caja Petri y voltear.
 - Cubrir con cinta para film la caja Petri, codificar y dejar en un ambiente anaerobio utilizar el método de la vela.
 - Realizar el conteo respectivo de las UFC.

9. Determinación de Coliformes totales.

- Aplicación: El uso del recuento de coliformes como indicador requiere un conocimiento amplio del proceso que al alimento ha sufrido (producción, procesamiento, distribución, etc.) y del efecto que él ha tenido en las bacterias coliformes.
- Procedimiento:
 - Sembrar con una pipeta de 1ml la disolución (-3) y colocar en la placa petri.
 - Esperar que la disolución se riegue por toda la placa Petri film
 - Codificar y dejar en la estufa por dos días a una temperatura de 37 a 40° C.
 - Realizar el conteo respectivo de las NMP.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

A. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS DE LA PULPA DE GUANÁBANA ELABORADA CON ADICIÓN DE PROBIÓTICOS (*Lactobacilos casei*).

1. Azúcares °Brix.

El contenido de azúcares en la pulpa de Guanábana fresca fue de 15 °Brix en todos los tratamientos, valores que al transcurrir el tiempo van disminuyendo paulatinamente hasta llegar a 14,08, 14,19, 14,18, 14,05 °Brix respectivamente al 0%, 0,5%, 1%, 1,5%, valores entre los cuales no difieren significativamente, esto quizá se deba a que a medida que se conserva el producto los microorganismos consumen en mínima parte estos azúcares de la pulpa de guanábana, que hacen que exista un crecimiento lento en su concentración.

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (FAO. 2005), la pulpa de fruta debe contener un valor máximo a 14,5 en °Brix, valor superior al encontrado en el presente estudio, de esta manera se puede manifestar que el producto es apto para el consumo.

La evaluación en el tiempo relacionado con los grados °Brix en el presente trabajo muestra un descenso mínimo en los cuatro tratamiento, esto se debe principalmente al consumo de los azúcares de la pulpa de guanábana por parte de las bacterias probióticas esto debido a que las bacterias ácido lácticas se encuentran en congelación, esto es corroborado por Serna, J. (2012), los datos también son comparados con el estudio de Shah, N. Ding, W. Fallourd, M. y Leyer, G. (2010), quienes también encontraron una disminución de °Brix en sus estudio de elaboración de jugos de frutas adicionados con *L rhamnosus*, *L paracasei* y *B lactis* en este estudios los jugos fueron almacenados por seis semanas, por lo cual se dice que en el estudio de la pulpa de guanábana los microorganismos probióticos tienen un mismo efecto comparado con los trabajos anteriores ya que estos probióticos consumen azúcares presentes en el producto, (Cuadro 8).

Cuadro 8. CONTENIDO DE AZÚCARES (°Brix) DE LA PULPA DE GUANÀBANA ELABORADA CON *Lactobacillus casei*.

Variables	Tratamientos				E.E.	Prob.
	0	0,5	1	1,5		
Azúcares (°Brix) Inicial	15,00 a	15,00 a	15,00 a	15,00 a	0,00	1,00
Azúcares (°Brix) 4 días	15,00 a	15,00 a	15,00 a	15,00 a	0,00	0,00
Azúcares (°Brix) 8 días	14,98 a	14,95 a	14,93 a	14,98 a	0,03	0,67
Azúcares (°Brix) 12 días	14,93 a	14,90 a	14,85 a	14,90 a	0,05	0,70
Azúcares (°Brix) 16 días	14,90 a	14,90 a	14,88 a	14,85 a	0,06	0,92
Azúcares (°Brix) 20 días	14,88 a	14,90 a	14,80 a	14,80 a	0,08	0,73
Azúcares (°Brix) 24 días	14,80 a	14,78 a	14,73 a	14,78 a	0,06	0,85
Azúcares (°Brix) 28 días	14,63 a	14,80 a	14,68 a	14,65 a	0,09	0,52
Azúcares (°Brix) 32 días	14,55 a	14,68 a	14,45 a	14,58 a	0,04	0,03
Azúcares (°Brix) 36 días	14,60 a	14,65 a	14,50 a	14,63 a	0,09	0,64
Azúcares (°Brix) 40 días	14,43 a	14,38 a	14,43 a	14,58 a	0,11	0,61
Azúcares (°Brix) 44 días	14,40 a	14,43 a	14,35 a	14,38 a	0,10	0,95
Azúcares (°Brix) 48 días	14,28 a	14,31 a	14,38 a	14,28 a	0,14	0,95
Azúcares (°Brix) 52 días	14,23 a	14,33 a	14,28 a	14,28 a	0,11	0,93
Azúcares (°Brix) 56 días	14,15 a	14,33 a	14,20 a	14,10 a	0,10	0,47
Azúcares (°Brix) 60 días	14,08 a	14,19 a	14,18 a	14,05 a	0,08	0,54

Letras iguales no difieren significativamente según Tukey ($P < 0,05$).

E.E. Error Estándar.

2. pH.

El pH de la pulpa de guanábana al aplicar el tratamiento control 0% y los niveles de *Lactobacillus casei* 0,5, 1.0 y 1,5 % en el producto fresco registra 3,50 respectivamente en todos los tratamientos, los mismos que van incrementando paulatinamente a medida que se va evaluado hasta los 60 días, lo que significa que el producto es menos ácido, identificándose que el tratamiento control conserva su pH, mientras que al utilizar los tratamientos con *Lactobacillus casei* tiene una tendencia de incrementar el pH, como se observa un cambio a partir del día 44, y llegando a los 60 días los tratamientos 0,5, 1,0 y 1.5 %, con los cuales se determinaron 3,83, 3,85 y 3,86 respectivamente, mientras que el control registró 3,75, el mismo que difiere significativamente de los tratamientos alternativos.

Según las normas del Instituto de normalización ecuatoriano. (INEN. 2008), la pulpa de fruta debe contener valores inferiores a 4,5 en pH, valor superior al encontrado en el presente estudio, de esta manera se puede manifestar que el producto es apto para el consumo. (INEN 2337, 2008).

Al transcurrir el tiempo existe un aumento mínimo de pH, disminuyendo la acidez del producto en los tratamientos con adición de probióticos *Lactobacillus casei*, esto debido a la poca proliferación de las bacterias probióticas las mismas que se mantienen aún en el producto en un pH ácido, Según Serna, J. (2012), nos comenta que los resultados obtenidos en su estudio muestran diferencias en el comportamiento de la cepa estudiada, evidenciando que el pH y el tiempo de incubación sobre medios ácidos influyeron en la viabilidad de las bacterias, menciona que la cepa fue resistente también logro sobrevivir y adaptarse a pH, también Champagne, C. y Gardner, N. (2005). Nos comentan que si bien las cepas son ácido tolerantes, la baja proliferación de las bacterias ácido lácticas se puede deber al bajo pH de la matriz estudiada. Por lo tanto se sugiere ampliamente la fuerte influencia del pH sobre la supervivencia celular en varios productos alimenticios, evaluando el estudio presente sobre la pulpa de guanábana con adición de probióticos, los microorganismos probióticos no disminuyen su

crecimiento pero si tiene un crecimiento demorado debido al bajo pH y también se recalca su supervivencia a un medio ácido, (Cuadro 9).

Cuadro 9. CONTENIDO DE pH DE LA PULPA DE GUANÁBANA ELABORADA CON *Lactobacillus casei*

Variables	Tratamientos				E.E.	Prob.
	0	0,5	1	1,5		
pH Inicial	3,50 a	3,50 a	3,50 a	3,50 a	0,00	0,00
pH 4 días	3,50 a	3,50 a	3,50 a	3,51 a	0,01	0,43
pH 8 días	3,50 a	3,50 a	3,50 a	3,51 a	0,01	0,43
pH 12 días	3,50 a	3,48 a	3,49 a	3,51 a	0,02	0,38
pH 16 días	3,54 a	3,55 a	3,56 a	3,55 a	0,02	0,91
pH 20 días	3,58 a	3,60 a	3,58 a	3,58 a	0,02	0,74
pH 24 días	3,60 a	3,60 a	3,59 a	3,59 a	0,01	0,59
pH 28 días	3,61 a	3,60 a	3,63 a	3,60 a	0,02	0,70
pH 32 días	3,64 a	3,66 a	3,68 a	3,68 a	0,02	0,61
pH 36 días	3,65 a	3,70 a	3,68 a	3,68 a	0,02	0,43
pH 40 días	3,71 a	3,75 a	3,78 a	3,73 a	0,03	0,48
pH 44 días	3,70 c	3,76 b	3,80 a	3,79 a	0,02	0,02
pH 48 días	3,71 b	3,80 a	3,81 a	3,81 a	0,01	0,00
pH 52 días	3,74 c	3,86 b	3,90 a	3,86 b	0,02	0,00
pH 56 días	3,74 b	3,88 a	3,88 a	3,89 a	0,02	0,00
pH 60 días	3,75 c	3,83 b	3,85 a	3,86 a	0,03	0,09

Letras iguales no difieren significativamente según Tukey ($P < 0,05$).
E.E. Error Estándar

Mediante análisis de la regresión que se realizó el pH de la pulpa de guanábana está relacionada significativamente ($P < 0,01$) de los niveles de los niveles de *Lactobacillus casei*, el 40,33 % de acidez de la pulpa de guanábana está determinada por los niveles de *Lactobacillus casei* a una regresión de segundo orden, y por cada porcentaje de este cultivo de bacterias, el pH aumenta 0,1663 unidades hasta la utilización de 1,00 % de este cultivo, y niveles superiores a este, hace que la acidez nuevamente tienda a incrementar, (Gráfico 1).

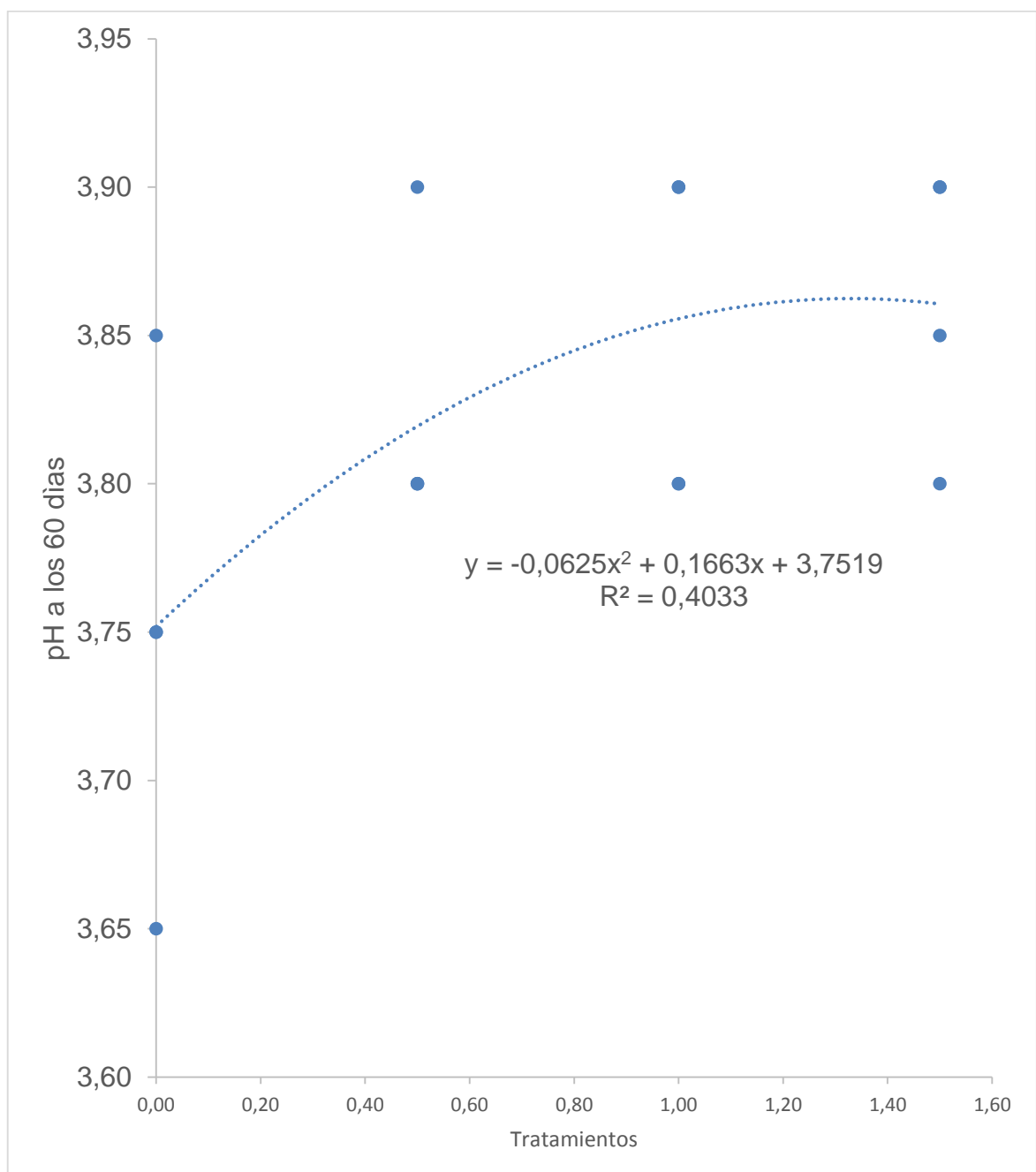


Gráfico 1. pH de la pulpa de guanábana elaborada con *Lactobacillus casei*.

3. Acidez °Dornic.

La acidez de la pulpa de guanábana al aplicar el tratamiento control y el tratamiento con *Lactobacillus casei* en niveles de 0,5, 1.0 y 1,5 % en el producto fresco registra 111,00 grados Dornic, en todos los tratamientos, los mismos que van reduciendo paulatinamente a medida que se va evaluado hasta los 56 días, sin encontrarse significancia, mientras que al día 60, esta acidez va reduciendo principalmente de los tratamiento, 0,5, 1,0 y 1,5 % de *Lactobacillus casei* puesto que registraron 101,25, 100,50 y 100,13 °D respectivamente, Esto quizá se deba a que el tratamiento control no reduce la acidez, mientras que el resto de tratamientos esta acidez va perdiendo en una pequeña proporción que hace la diferencia.

Según las normas INEN, la pulpa de fruta debe contener valores inferiores a 0,1% en acidez, valor que al transformar el °Brix en porcentaje de acidez tenemos un valor igual encontrado en el presente estudio, de esta manera se puede manifestar que el producto es apto para el consumo, (INEN 2337, 2008).

La reducción en el grado de acidez de la pulpa durante todo el proceso se ve afectada de igual manera llegando al día 60 haciéndola diferentes al tratamiento control esto posiblemente que al pasar del tiempo exista degradación de ácidos orgánicos cuya teoría es corroborada por Posada, A. (2004), en lulo, Guadarrama. (1983), en semeruco (*Malpighia puniceifolia* L.), Shwartz. (2009), en granada (*Punica granatum*), Schweiggert. (2011), en papaya (*Carica papaya* L.), Jiménez. (2011), en gulupa (*Passiflora edulis* S.) y en mango (*Mangifera indica* L), nos comentas que esta reducción es por consecuencia de la degradación de los ácidos orgánicos en los procesos de respiración, mecanismo vital que ocurre durante la etapa de maduración del fruto en congelación, técnica que se usó en nuestro estudio, para el caso del comportamiento de los microorganismos probióticos, Cuadro 10 muestra la viabilidad de los microorganismos en el tiempo de 60 días de almacenamiento a -20°C, Apolinar. (2010), nos dice que observo claramente un bajo crecimiento del contenido de probióticos en la pulpa de mango con una menor acidez, pero siendo más notoria en la pulpa de mora, esto debido al efecto de su acidez, ya que la pulpa de mora presenta una mayor acidez generando más mortalidad de los

microorganismos probióticos en el tiempo, mientras que en nuestro estudio se ajusta al estudio de Apolinar. (2010), con su pulpa de mango, donde la acidez va disminuyendo pero al igual existe un bajo crecimiento en bacterias probióticas.

Cuadro 10. CONTENIDO DE ACIDEZ (°Dornic) DE LA PULPA DE GUANÁBANA ELABORADA CON *Lactobacillus casei*.

Variables	Tratamientos				E.E.	Prob.
	0	0,5	1	1,5		
Acidez (°Dornic) Inicial)	111,00 a	111,00 a	111,00 a	111,00 a	0,00	0,00
Acidez (°Dornic) 4 días	111,00 a	111,00 a	111,00 a	110,63 a	0,19	0,43
Acidez (°Dornic) 8 días	111,00 a	111,00 a	111,00 a	110,63 a	0,19	0,43
Acidez (°Dornic) 12 días	111,00 a	110,25 a	109,88 a	110,63 a	0,55	0,53
Acidez (°Dornic) 16 días	109,88 a	109,50 a	109,13 a	109,50 a	0,73	0,91
Acidez (°Dornic) 20 días	108,75 a	108,00 a	108,38 a	108,75 a	0,47	0,64
Acidez (°Dornic) 24 días	108,00 a	108,00 a	108,75 a	108,38 a	0,29	0,25
Acidez (°Dornic) 28 días	107,63 a	108,00 a	107,25 a	108,00 a	0,52	0,70
Acidez (°Dornic) 32 días	106,88 a	106,13 a	105,75 a	105,75 a	0,67	0,61
Acidez (°Dornic) 36 días	106,50 a	105,00 a	105,75 a	105,75 a	0,61	0,43
Acidez (°Dornic) 40 días	104,63 a	103,50 a	102,75 a	104,25 a	0,89	0,48
Acidez (°Dornic) 44 días	105,00 a	103,13 a	102,00 a	102,38 a	0,59	0,02
Acidez (°Dornic) 48 días	104,63 a	102,00 a	101,63 a	101,63 a	0,45	0,00
Acidez (°Dornic) 52 días	104,25 a	100,50 a	99,00 a	100,13 a	0,52	0,00
Acidez (°Dornic) 56 días	103,88 a	100,13 a	99,75 a	99,38 a	0,66	0,00
Acidez (°Dornic) 60 días	104,25 a	101,25 c	100,50 c	100,13 b	0,77	0,01

Letras iguales no difieren significativamente según Tukey (P < 0,05).

E.E. Error Estándar.

Mediante análisis de la regresión que se realizó la acidez de la pulpa de Guanábana está relacionada significativamente ($P < 0,01$) de los niveles de los niveles de *Lactobacillus casei*, el 58,45 % de acidez de la Pulpa de guanábana está determinada por los niveles de *Lactobacillus casei* a una regresión de segundo orden, y por cada porcentaje de este cultivo de bacterias, el pH reduce 6,562 unidades hasta la utilización de 1,00 % de este cultivo, y niveles superiores a este, hace que la acidez nuevamente tienda a incrementar, (Gráfico 2).

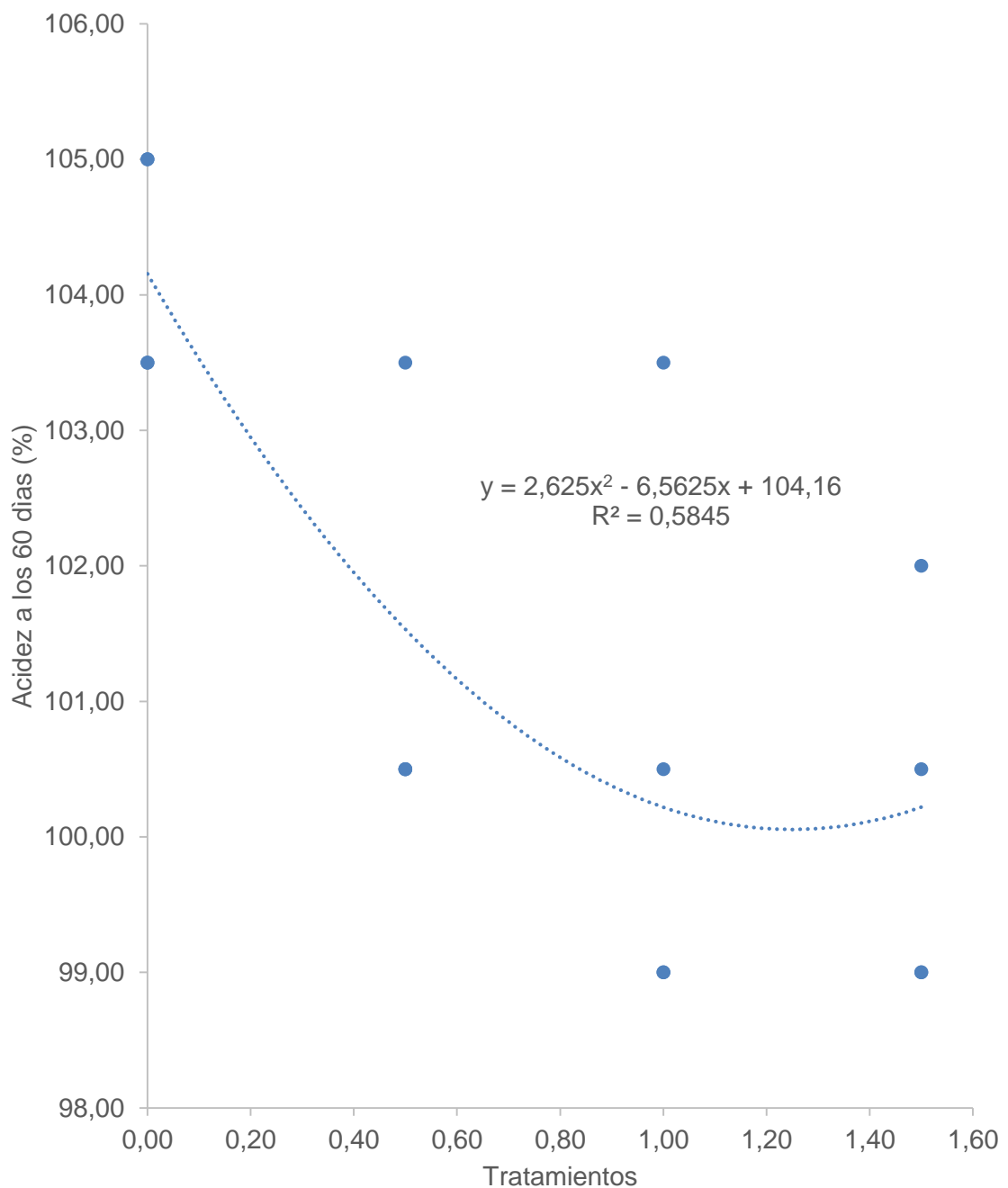


Gráfico 2. Acidez de la pulpa de guanábana elaborada con *Lactobacillus casei*.

B. ANÁLISIS ORGANOLÉPTICOS DE LA PULPA DE GUANÁBANA ELABORADA CON ADICIÓN DE PROBIÓTICOS (*Lactobacilos casei*).

1. Color, 5 puntos.

La utilización de 0, 0,5, 1 y 1,5 % de *Lactobacillus casei* en la pulpa de guanábana permitió registrar una coloración de 4,00, 3,75, 3,75 y 3,54 / 5 puntos respectivamente, los mismos que pertenecen a una calificación de muy buena, valores entre los cuales no registran diferencias significativas ($P > 0,05$), esto quizá se deba a que este tipo de microorganismos en la pulpa de la guanábana no causa pigmentación alguna, razón por la que los catadores no encontraron diferencias algunas.

2. Olor, 5 puntos.

El color de la pulpa de guanábana al aplicar 0, 0,5, 1 y 1,5 % de *Lactobacillus casei* permitió registrar una coloración de 3,71, 3,58, 3,75 y 3,83 / 5 puntos respectivamente, los mismos que pertenecen a una calificación de muy buena, valores entre los cuales no registran diferencias significativas ($P > 0,05$), esto quizá se deba a la inclusión de *Lactobacillus casei* no causan cambios en la estructura de compuestos orgánicos aromáticos de la pulpa de guanábana lo que hizo que los catadores no diferenciaran a su percepción.

En el estudio presente pulpa de guanábana con adición de probióticos no existe cambios ni positivos tampoco negativos ya que los probióticos no influyen en este aspecto. Según Serna, J. (2012), dice que observo en su investigación, que los tres aspectos que analizo, en el que se percibió más alterado fue el olor. Sin embargo, en promedio este atributo fue concebido como tolerante y quedo clasificado dentro del rango de "bueno", esto es explicado a que debido al metabolismo de este tipo de microorganismo ocurre la producción normal de una serie de metabolitos que tiene olores y sabores característicos, pero en la investigación de la pulpa de guanábana con adición de probióticos al parecer no ocurre este proceso metabólico

ya que no existe un cambio significativo entre los tratamientos al igual se obtuvieron calificaciones de buena y muy buena por parte de los catadores.

3. Sabor, 5 puntos.

El sabor de la pulpa de guanábana al aplicar 0, 0,5, 1 y 1,5 % de *Lactobacillus casei* permitió registrar una coloración de 3,71, 3,75, 3,67 y 3,29 / 5 puntos respectivamente, los mismos que pertenecen a una calificación de muy buena y buena, valores entre los cuales no registran diferencias significativas ($P > 0,05$), esto posiblemente se deba a que los *Lactobacillus casei* no ayudan a cambiar la estructura de los compuestos orgánicos aromáticos de la pulpa de guanábana, por ende los catadores no identificaron cambio alguno en su sabor en el momento de su degustación.

Este aspecto del sabor en la pulpa de guanábana no se ve afectada por los microorganismos probióticos, al igual que Serna, J. (2012), en su investigación nos dice que no hubo diferencias entre los tratamientos con adición de probióticos obteniendo calificaciones de buena y muy buena. Aparentemente este aspecto en el estudio de la pulpa de guanábana con adición de probióticos, en el proceso fermentativo del microorganismo, no existe cambios representativos en el sabor de la pulpa pero que de igual manera fueron agradables para los consumidores.

4. Carácter apetecible ,5 puntos.

En cuanto al carácter apetecible de la pulpa de guanábana al aplicar 0, 0,5, 1 y 1,5 % de *Lactobacillus casei* permitió registrar una aceptabilidad de 3,17, 2,83, 3,79 y 3,29 / 5 puntos respectivamente, los mismos que corresponden a una calificación buena y muy buena, valores entre los cuales no registran diferencias significativas ($P > 0,05$), esto posiblemente se deba a que los *Lactobacillus casei* no cambian la estructura de la pulpa de guanábana, por ende los catadores no identificaron cambio alguno en su estructura en el momento de su degustación en cuanto al tratamiento control y los tratamientos con probióticos.

La pulpa de guanábana con adición de probióticos presenta una aceptación de buena y muy buena, corroborado por Serna, J. (2012), a nivel de apariencia no presenta diferencias significativas en su estudio con adición de probióticos, clasificándose también en las variables entre los rango de buena y muy buena, donde podemos ver claramente que los microorganismos probióticos no tienen un efecto en características organolépticas lo que significa que nuestro producto en de buena aceptabilidad, corroborado en estos estudios no hubo un cambio representativo en sus características.

También debido al producto decimos que la fruta tiene características fuertes como por ejemplo, olor, sabor y color los mismos que permiten enmascarar características producidas por los probióticos ya que estos en algunos casos producen metabolitos los cuales pueden ir cambiando sus propiedades organolépticas, varios autores reportan y recomiendan el uso de frutas tropicales con características fuertes para la elaboración de jugos o pulpas ya que, por sus aromas y sabores fuertes permiten que se enmascaren los sabores, olores y otros características de los metabolitos producidos por las bacterias ácido lácticas usadas como probióticos. Sheehan, V. (2006), recomienda el uso de frutas o pulpas como piña, mango, maracuyá, estos como vehículos para probióticos, ya que en encuestas a consumidores se logró establecer que dichas frutas atenuaron los cambios producidos por la fermentación bacteriana producidas por las bacterias ácido lácticas. Así mismo Do Espiritu-Santo. (2011), reporta la nueva tendencia en el consumo de bebidas a base de frutas exóticas y su potencial en la elaboración de alimentos funcionales. Así como el efecto protector hacia los microorganismos benéficos. Pereira, F. (2011), también sugiere que el empleo de frutas y vegetales como matrices probióticos le amplían la oferta a los consumidos por nuevos y diferentes sabores al utilizar frutas muy dulces se mejoría la proliferación de estas bacterias ácido lácticas ya que estas bacterias consumirían los azúcares presentes en la frutas. Los resultados obtenidos nos sugieren que al usar la guanábana para la extracción de su pulpa es una buena opción para el desarrollo de bebidas funcionales ya que sus características organolépticas fuertes, no se verán afectadas por características organolépticas producidas por microorganismos probióticos, (Cuadro 11).

Cuadro 11. CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DE LA PULPA DE GUANÁBANA ELABORADA CON *Lactobacillus casei*.

Variables	Tratamientos				0.15	0.23
	0	0.5	1	1.5		
Color, Puntos	4.00 a	3.75 a	3.75 a	3.54 a	0.15	0.23
Olor, Puntos	3.71 a	3.58 a	3.75 a	3.83 a	0.14	0.64
Sabor, Puntos	3.71 a	3.75 a	3.67 a	3.29 a	0.19	0.35
Textura, Puntos	3.75 a	3.63 a	3.63 a	3.58 a	0.15	0.88
Aceptabilidad, Puntos	3.17 a	2.83 a	3.79 a	3.29 a	0.28	0.17
Total, Puntos	18.33 a	17.54 a	18.58 a	17.54 a	0.43	0.26

Letras iguales no difieren significativamente según Tukey ($P < 0,05$).

E.E. Error Estándar

C. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA PULPA DE GUANABANA ELABORADA CON ADICIÓN DE PROBIÓTICOS (*Lactobacilos casei*).

1. Aerobios Mesófilos.

La presencia de aerobios mesófilos en la pulpa de guanábana con adición de probióticos inicialmente fue de 1000 y 1250 (UFC/ml), en todos los tratamientos, los mismos que durante el periodo de evaluación fueron incrementando hasta llegar a los 2875, 2250, 2375, y 2250 UFC/ml, y luego de esto se mantuvieron en un rango pudiéndose señalar que este crecimiento no registro diferencias estadísticas entre los diferentes tratamientos.

Según las normas INEN, la pulpa de fruta debe contener como máximo hasta 3000 UFC/ml, valor superior al encontrado en el presente estudio, de esta manera se puede manifestar que el producto es apto para el consumo. (INEN 2337, 2008).

La presencia de microorganismos probióticos en la pulpa de guanábana se puede observar en el Cuadro 12. Que existe un crecimiento alto en el tratamiento control sin adición de probióticos llegando casi al límite de la norma establecida para aerobios mesófilos en pulpas de frutas ya que al no existir bacterias probióticas no hubo un control por parte de las mismas; mientras que en los tratamientos con probióticos se observa que existe un crecimiento menor que al tratamiento control según esto se dice que los microorganismos probióticos aparte de su beneficio probiótico este también ayuda a la inhibición y control de microorganismos patógenos mediante la producción de ácido láctico, esto es corroborado por Hernandez, V. (2017), donde nos dice que en relación a los microorganismos probióticos una de sus funciones está en la inhibición de microorganismos patógenos ya que se ven afectados directamente por el ácido láctico producido, y como se puede observar en la investigación presente los microorganismos patógenos como en este caso son aerobios mesófilos, tenemos que en un determinado tiempo se ven afectados por esta función de los probióticos y bajan sus números poblacionales respecto al tratamiento control.

Cuadro 12. CONTENIDO DE AEROBIOS MESÓFILOS (UFC/ml) EN LA PULPA DE GUANÁBANA ELABORADA CON *Lactobacillus casei*.

Variables	Tratamientos				E.E.	Prob.
	0	0,5	1	1,5		
PCA (UFC/ml) Inicial	1000,00 a	1250,00 a	1000,00 a	1000,00 a	239,36	0,84
PCA (UFC/ml) 4 días	1125,00 a	1250,00 a	1375,00 a	1375,00 a	194,32	0,77
PCA (UFC/ml) 8 días	1375,00 a	1625,00 a	2000,00 a	1875,00 a	231,05	0,28
PCA (UFC/ml) 12 días	1125,00 a	1500,00 a	1500,00 a	1625,00 a	301,90	0,68
PCA (UFC/ml) 16 días	1250,00 a	1875,00 a	2125,00 a	2500,00 a	411,43	0,23
PCA (UFC/ml) 20 días	1750,00 a	2125,00 a	2250,00 a	2500,00 a	295,36	0,38
PCA (UFC/ml) 24 días	1875,00 a	2375,00 a	2750,00 a	2625,00 a	299,74	0,23
PCA (UFC/ml) 28 días	1875,00 a	2500,00 a	2500,00 a	2625,00 a	364,43	0,49
PCA (UFC/ml) 32 días	1875,00 a	2375,00 a	2750,00 a	2500,00 a	502,60	0,67
PCA (UFC/ml) 36 días	1500,00 a	2500,00 a	2625,00 a	2375,00 a	222,44	0,02
PCA (UFC/ml) 40 días	2500,00 a	2625,00 a	2375,00 a	2125,00 a	340,42	0,76
PCA (UFC/ml) 44 días	2375,00 a	2500,00 a	2375,00 a	2250,00 a	274,81	0,94
PCA (UFC/ml) 48 días	2375,00 a	2625,00 a	2500,00 a	2125,00 a	231,05	0,49
PCA (UFC/ml) 52 días	2625,00 a	2250,00 a	2250,00 a	2125,00 a	197,64	0,35
PCA (UFC/ml) 56 días	2625,00 a	2375,00 a	2375,00 a	2125,00 a	260,21	0,62
PCA (UFC/ml) 60 días	2875,00 a	2250,00 a	2375,00 a	2250,00 a	222,44	0,20

Letras iguales no difieren significativamente según Tukey ($P < 0,05$).

E.E. Error Estándar

2. Mohos y Levaduras.

La presencia de mohos y levaduras en la pulpa de guanábana inicialmente fue de 50 y 25 (UP/ml), en todos los tratamientos, los mismos que al transcurrir el periodo de investigación, este tipo de microorganismos van incrementando al transcurrir el tiempo hasta los 60 días, aunque al realizar el análisis entre los tratamientos no existe diferencia significativa.

Según las normas del Instituto de normalización ecuatoriano (INEN. 2008)), la pulpa de fruta debe contener como máximo 1000 UFC/ml, valor superior al encontrado en el presente estudio, de esta manera se puede manifestar que el producto es apto para el consumo. (INEN 2337, 2008).

La presencia de microorganismos probióticos en la pulpa de guanábana se puede observar en el Cuadro 13, se puede decir que existe un crecimiento de mohos y levaduras muy bajo igualmente se puede observar que los microorganismos probióticos inhiben la proliferación de estos microorganismo patógenos y conservando el producto por más tiempo, según Serna, J. (2012), nos comenta que en su investigación de jugos con adición de bacterias ácidos lácticas, se presentó una flora bacteria (10^3 UP/ml) al inicio de su ensayo, pero a partir del tercer día de muestreo, las levaduras bajan sus poblaciones, y dicen que esta reducción en el crecimiento de los mohos y levaduras puede deberse a los cambios físico-químicos en los jugos generados por el crecimiento de las bacterias acido láctica también nos recomiendan para la eliminación este problema de propagación de mohos y levaduras la utilización de un medio conservante el cual ayudara a la conservación de la pulpa por mucho más tiempo logrando obtener un producto mucho más inocuo y con una vida útil alargada. Holzapfel, W. (1998) y Schillinger, S. (1995), comprueban el potencial de las bacterias acido láctica para controlar patógenos y microorganismos deterioraditos en los alimentos, en comparación estas investigaciones con la de la pulpa de guanábana con adición de probióticos se llega a la misma corroboración que los probióticos utilizados ayudan a controlar la proliferación de estos microorganismos patógenos ayudando a la conservación del producto por más tiempo.

Cuadro 13. CONTENIDO DE MOHOS Y LEVADURAS (UP/ml) DE LA PULPA DE GUANÁBANA ELABORADA CON *Lactobacillus casei*.

Variables	Tratamientos				E.E.	Prob.
	0	0,5	1	1,5		
PDA (UP/ml) Inicial)	50,00 a	50,00 a	50,00 a	25,00 a	27,95	0,89
PDA (UP/ml) 4 días	50,00 a	50,00 a	50,00 a	37,50 a	21,35	0,97
PDA (UP/ml) 8 días	50,00 a	62,50 a	50,00 a	50,00 a	35,90	0,99
PDA (UP/ml) 12 días	50,00 a	62,50 a	62,50 a	50,00 a	31,87	0,98
PDA (UP/ml) 16 días	62,50 a	100,00 a	62,50 a	50,00 a	26,52	0,59
PDA (UP/ml) 20 días	62,50 a	87,50 a	75,00 a	50,00 a	39,86	0,92
PDA (UP/ml) 24 días	100,00 a	87,50 a	75,00 a	87,50 a	35,72	0,97
PDA (UP/ml) 28 días	87,50 a	87,50 a	87,50 a	75,00 a	28,18	0,98
PDA (UP/ml) 32 días	87,50 a	87,50 a	87,50 a	75,00 a	26,27	0,98
PDA (UP/ml) 36 días	87,50 a	75,00 a	75,00 a	75,00 a	20,09	0,96
PDA (UP/ml) 40 días	100,00 a	75,00 a	75,00 a	87,50 a	32,87	0,94
PDA (UP/ml) 44 días	87,50 a	75,00 a	100,00 a	75,00 a	23,66	0,86
PDA (UP/ml) 48 días	87,50 a	75,00 a	75,00 a	87,50 a	34,99	0,99
PDA (UP/ml) 52 días	100,00 a	87,50 a	87,50 a	87,50 a	35,54	0,99
PDA (UP/ml) 56 días	87,50 a	100,00 a	75,00 a	87,50 a	38,53	0,97
PDA (UP/ml) 60 días	87,50 a	100,00 a	87,50 a	100,00 a	33,46	0,99

Letras iguales no difieren significativamente según Tukey ($P < 0,05$).

E.E. Error Estándar

3. Bacterias ácido lácticas.

La presencia de bacterias ácido lácticas en la pulpa de guanábana fresca al utilizar el tratamiento control, y los niveles de 0,5, 1 y 1,5 de *Lactobacillus casei* fue de 0, 227500, 341250 y 893750 UFC/ml respectivamente, valores entre los cuales difieren significativamente, demostrándose de que al incrementar la dosis de bacterias *Lactobacillus casei*, la cantidad del probiótico también incrementan significativamente, esto se debe al efecto directo de los tratamientos, por otro lado se puede señalar que a medida que este producto se conserva en el tiempo hasta los 60 días, las bacterias ácido lácticas también van incrementando en todos los tratamientos siendo así el tratamiento 1,5% mejor mostrando poblaciones de 10^6 UFC/ml.

Según la FAO. (2002), la pulpa de fruta debería contener como mínimo hasta 10^7 - 10^9 UFC/ml, ya que estos valores son usados como mínimo en productos funcionales, valor muy cerca encontrado en el presente estudio, de esta manera se puede manifestar que el producto está muy cerca de ser categorizado como un alimento funcional.

En el trabajo realizado se puede decir que en su mejor tratamiento del 1,5% de adición de probióticos existe un valor de 10^6 UFC/g valor muy cercano al establecido por normas internacionales, pero a qué se debe su baja proliferación y se apunta al método de la congelación este tiene que ver principalmente en la reproducción espontánea de las bacterias ácido láctica la cual hace que su proceso de crecimiento sea más lento de lo normal, esto es confirmado por Gill, C. (2006), nos dice que en el proceso de congelamiento en su investigación afecto a la pared celular del microorganismo probiótico. Lo que nos trata de decir que debido al estrés mecánico provocado por los cristales de hielo, al daño por frío a las membranas celulares, a la condensación de solutos en el medio y a la deshidratación de la célula lo que no permite un crecimiento normal en un ambiente de congelación, de igual manera Hekmat, S. y McMahon, D. (1992), demuestran que la congelación en su investigación disminuyo en 1 ciclo logarítmico a las poblaciones de *L. acidophilus*, mientras que encontraron una disminución del 10 % de las poblaciones de *B. Lactis*

y *B Animalis*, por otro lado Gill, C. (2006), nos dice que entre más rápido sea el proceso de congelamiento, más pequeños serán los cristales de hielo formados y por lo tanto menor será el daño que provoquen a la pared y a la membrana celular de los probióticos, en nuestro proceso de conservación sin ninguna duda la congelación jugó un papel muy importante en la proliferación de las bacterias probióticas adicionadas en la pulpa de guanábana.

La pulpa de guanábana procesada con la adición de los probióticos fue almacenada a una temperatura de -20 °C recomendada dentro de la norma INEN 2337 (2008), según Cruz, A. Antunes, A. Sousa, A. y Faria, J. (2009), nos dice que observaron que existió una reducción de las poblaciones entre 0,6 a 3 ciclos logarítmicos (0,6 a 3 log), después de almacenar su trabajo a -18 °C durante 2 a 3 meses, al parecer si se aplica una temperatura menor a la establecida en la norma se obtendrá una reducción en sus poblaciones, por otro lado Homayouni, A. Ehsani, M. Azizi, A. Razavi, S. y Yarmand. (2008), nos recomienda almacenar el producto terminado entre -20 a -28 °C, evitando variaciones importantes de temperatura y procesos de congelamiento y descongelamiento. De esta manera puede conservarse la viabilidad de Lactobacilos de 5 meses hasta por un año, la presente investigación se la realizó hasta los 60 días y se pudo observar que los microorganismos probióticos no bajaban sus poblaciones al contrario su proliferación aumentada al pasar los días lo que permite imaginar que el producto al pasar los días sus poblaciones irían aumentando.

La inoculación de microorganismo probióticos se la realizó de una forma similar a la de los yogures comerciales y luego de esta fue almacenada. Cruz, A. Antunes, A. Sousa, A. y Faria, J. (2009), recomienda hacer una inoculación buena en cualquier producto donde utilicemos microorganismos probióticos con concentraciones altas de bacteria para que después de este tiempo sigan estando viables más de 10^7 UFC/g lo que nos permite la norma para tener un producto funcional y así puedan ejercer el efecto benéfico esperado.

La elección del probiótico para el trabajo a investigar fueron los *Lactobacillus casei*, al realizar una investigación de que probiótico fuera el mejor para la investigación

se eligió estos por sus varias propiedades benéficas. Cruz, A. Antunes, A. Sousa, A. y Faria, J. (2009), nos dice que es importante elegir un probiótico que puedan resistir la deshidratación causada por la congelación, sin que sus paredes celulares se rasguen. Como factor adicional, recomienda el uso de crioprotectores para proteger a la membrana.

La pulpa de guanábana con adición de probióticos alcanza un máximo de 10^6 UFC/ml en su mejor tratamiento Reid, G. (2008). Charteris, W. Kelly, P. y Morelli, L. (1998), establecen que para que los microorganismos probióticos sobrevivan a las condiciones adversas del tracto gastrointestinal y alcancen el intestino en número viables, es necesario que estén presentes en una concentración de al menos 10^6 UFC/ml, lo que quiere decir que la pulpa de guanábana contiene un nivel corresponde a valores por bajo de lo recomendado usualmente encontrados en productos lácteos comerciales con probióticos, hay que tomar en cuenta el tiempo de la investigación presente se la realizo por 60 días y se sospecha que al transcurrir los días este producto llegue a los valores internaciones donde puede ser categorizado como un alimento funcional, (Cuadro 14).

Cuadro 14. CONTENIDO DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS EN LA PULPA DE GUANÁBANA ELABORADA CON *Lactobacillus casei*.

Variables	Tratamientos				E.E.	Prob.
	0	0,5	1	1,5		
BAL (UFC/ml) Inicial)	0,0 d	227500,0 c	341250,0 b	893750,0 a	27352,8	0,00
BAL (UFC/ml) 15 días	0,0 d	292500,0 c	422500,0 b	1194375,0 a	51118,6	0,00
BAL (UFC/ml) 30 días	0,0 c	333125,0 b	446875,0 b	1340625,0 a	37600,9	0,00
BAL (UFC/ml) 45 días	0,0 d	341250,0 c	520000,0 b	1551875,0 a	28821,8	0,00
BAL (UFC/ml) 60 días	0,0 d	365625,0 c	593125,0 b	1673750,0 a	42088,2	0,00

Letras diferentes difieren significativamente según Tukey (P < 0,05).

E.E. Error Estándar.

La presencia de bacterias ácido lácticas (BAL), está relacionada significativamente con los niveles de tratamientos de probióticos 0,5%, 1%, 1,5%. Está relacionada significativamente el 0,4% de las (BAL) depende de los tratamientos a una regresión de tercer orden al aplicar los probióticos de 0% hasta 0,5% estos m/os incrementan 636468 UFC, de ahí niveles superiores se incremente en 1×10^6 cuando se aplica de 0,5%, finalmente los niveles de 1% hasta 1,5% hacen que la presencia de las (BAL), hacen que se reduzcan en 476667 UFC, (Gráfico 3).

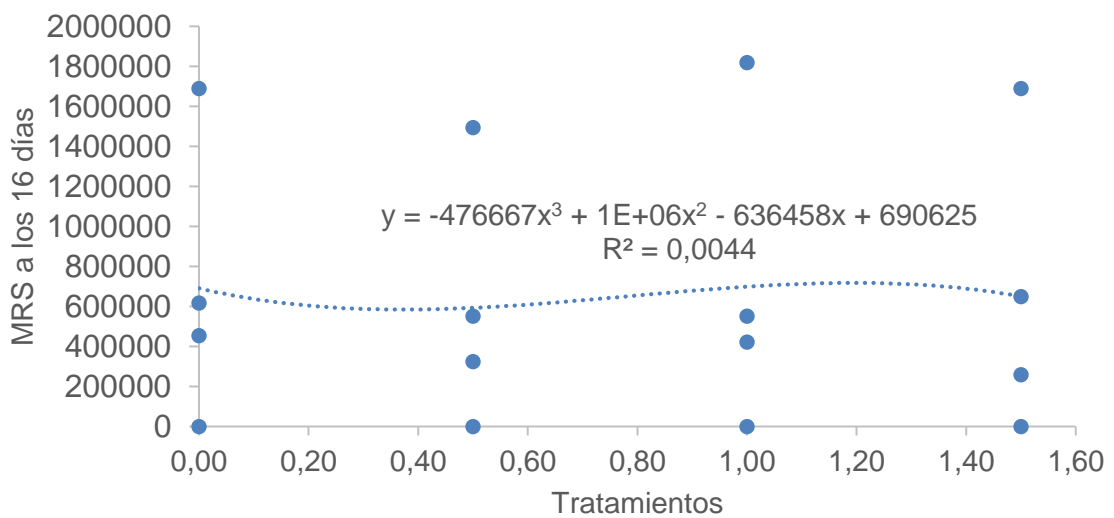


Gráfico 3. Bacterias ácido lácticas de la pulpa de guanábana elaborada con *Lactobacillus casei*.

4. Coliformes Totales.

En la pulpa de Guanábana al utilizar los diferentes niveles de *Lactobacillus casei* no se registró presencia de coliformes totales, lo que significa que el estudio fue realizado en un medio aséptico, siendo importante en la producción de alimentos, esto se debe a que se tomó en consideración las diferentes medidas de seguridad alimentaria.

Según la normativa de normalización ecuatoriana. (INEN. 2008), la pulpa de fruta debe contener valores <3 NMP (número más Probable), valor no hallado en la presente investigación, de esta manera se puede manifestar que el producto es apto para el consumo. (INEN 2337, 2008).

D. VIDA DE ANAQUEL

1. °Brix

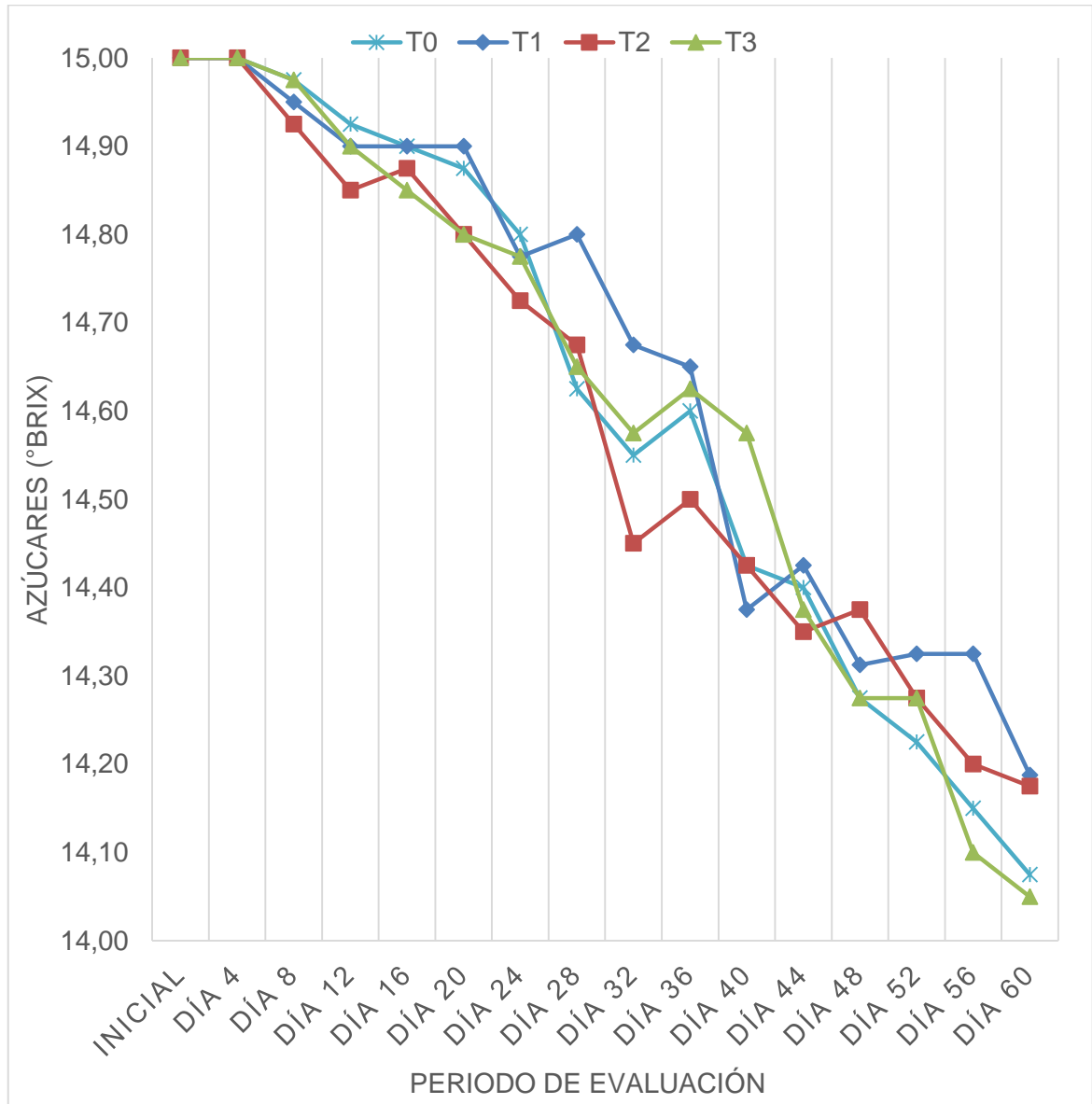


Gráfico 4. Contenido de azúcares de la pulpa de guanábana elaborada con *Lactobacillus casei*, durante 60 días.

Como se observa en el Gráfico 4, el contenido de azúcares en la pulpa de guanábana durante el periodo de conservación tiene una tendencia a reducir, esto ocurre debido a que la presencia de *Lactobacillus Casei*, tienen a consumir los azúcares de este producto lo que hace que este indicador en todos los tratamientos se vea inversamente proporcional.

2. pH.

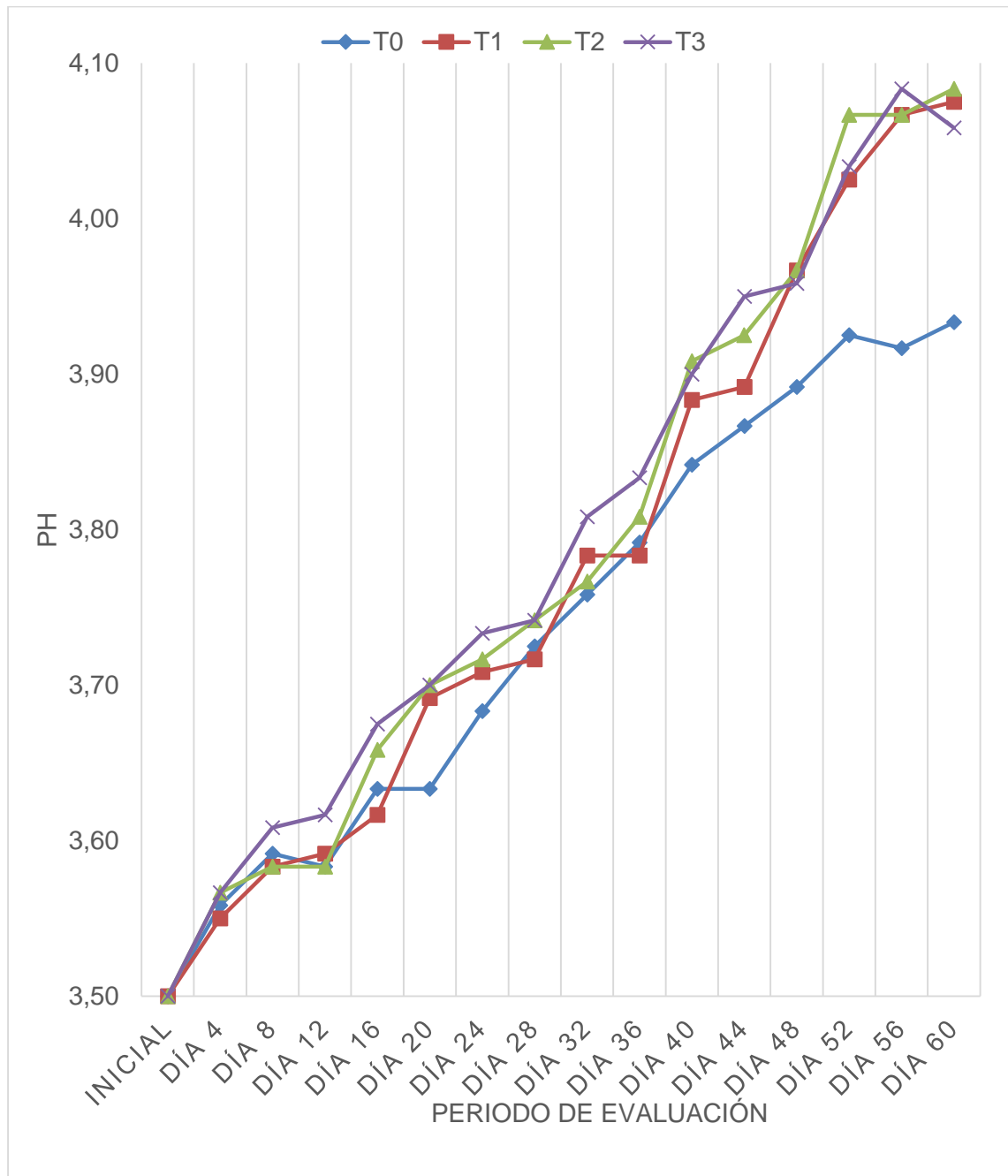


Gráfico 5. pH de la pulpa de guanábana elaborada con *Lactobacillus casei*, durante 60 días.

Como se observa en el Gráfico 5, en cuanto al pH de la pulpa de guanábana durante el periodo de conservación tiene una tendencia a dejar de ser acida ósea este indicador sube desde 3,5 hasta 4,1, esto ocurre a que al utilizar los diferentes niveles de *Lactobacillus casei*, en el producto, esta tiene una tendencia a dejar de ser acida, corroborando el comportamiento de la acidez.

3. Acidez.

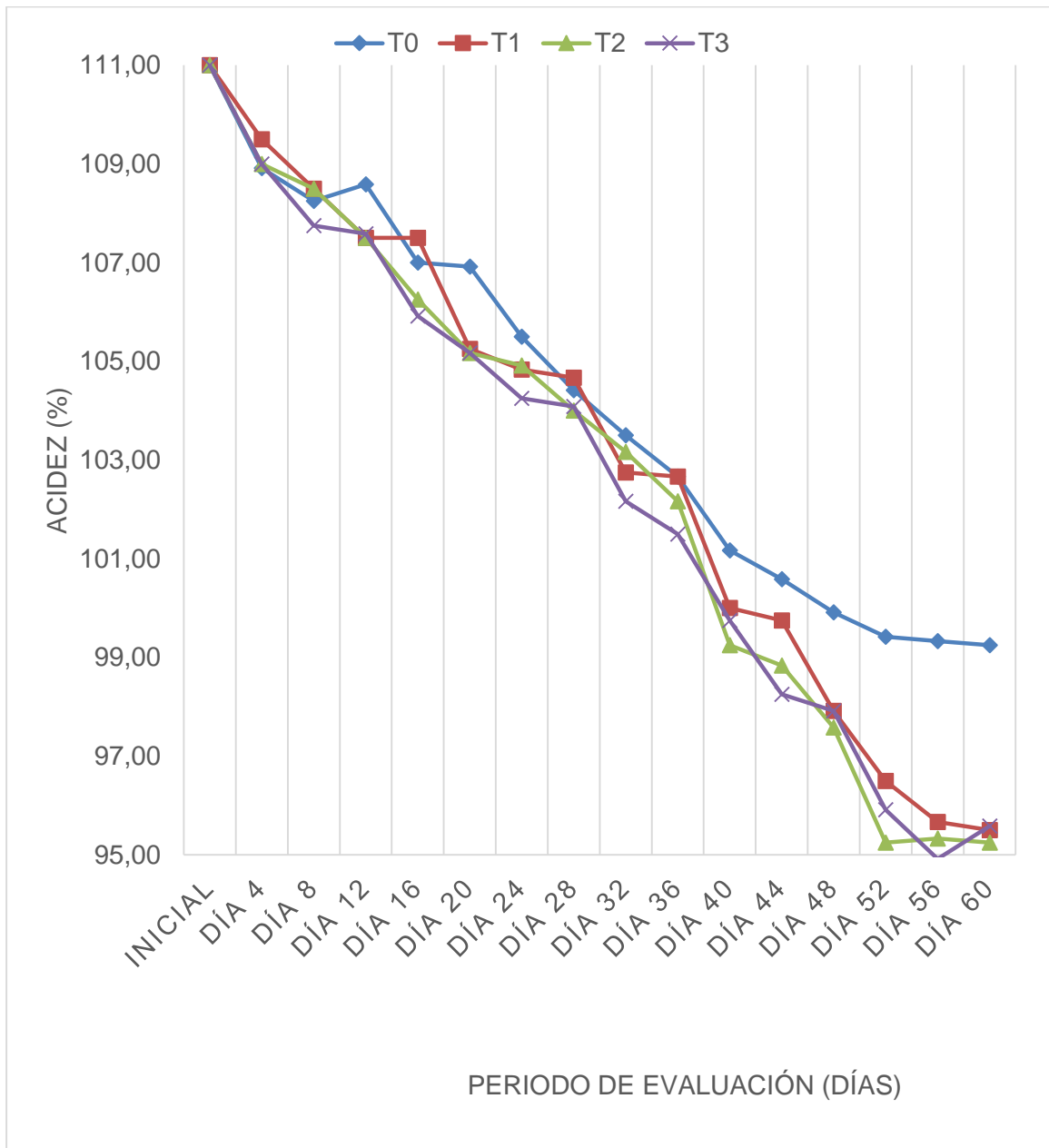


Gráfico 6. Acidez de la pulpa de guanábana elaborada con *Lactobacillus casei*, durante 60 días

Como se observa en el Gráfico 6, la acidez de la pulpa de guanábana durante el periodo de conservación tiene una tendencia a dejar de ser acida, esto ocurre a utilizar los diferentes niveles de *Lactobacillus casei*, esto posiblemente se deba a que la proliferación de microorganismos durante cierto tiempo en un mismo cultivo tienden a reducir su carga microbiológica, haciendo que sea menos acida, particularidad que ocurre con el presente estudio.

4. Microbiológica.

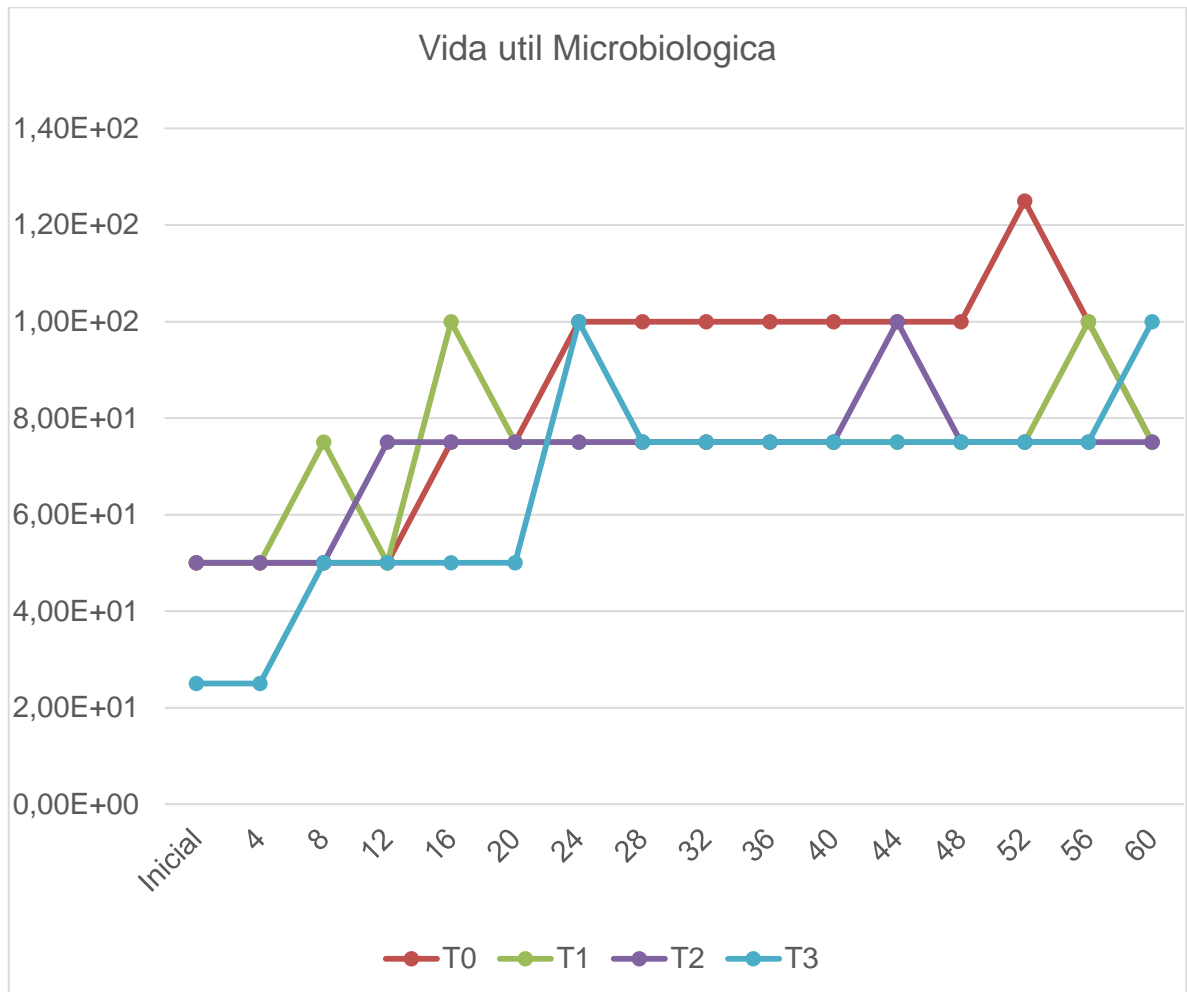


Gráfico 7. Vida útil Microbiológica de la pulpa de guanábana elaborada con *Lactobacillus casei*, durante 60 días.

Como se observa en el Gráfico 7, la vida útil de los tratamientos de la presente investigación se realizó en base a los resultados microbiológicos siguiendo la ecuación de primer orden como se muestra en el (cuadro 13).

La vida útil de un alimento es el periodo en el que puede mantenerse en condiciones de almacenamiento específicas sin que pierda su seguridad y calidad óptima. La vida útil empieza desde el momento en que se elabora el alimento y depende de muchos factores como el proceso de fabricación, el tipo de envasado, los ingredientes utilizados y las condiciones de almacenamiento.

Los diferentes niveles de probióticos reportaron valores entre 4 a 7 días de vida útil, donde se manifiesta que la pulpa de guanábana es muy perecedera y se deteriora dentro de los 4 días después de su producción en el tratamiento control. En los tratamientos con los diferentes niveles de probióticos se encuentran igualmente dentro del rango respecto al tratamiento control donde se obtuvieron valores de 4 días de vida útil tanto en el tratamiento 0,5% y 1% de *Lactobacillus casei* respectivamente, mientras que el tratamiento al 1,5% de *Lactobacillus casei* se manifiestan un valor de 7 días de vida útil respectivamente; lo que nos garantiza la eficacia del uso del 1,5% de *Lactobacillus casei* en la elaboración de pulpa de guanábana con adición de probióticos.

Cuadro 15. VALORES DE LN DE CADA VALOR DE UFC/ML PARA CALCULAR

MOHOS Y LEVADURAS				
Temperatura de congelación				
Resultados				
TIEMPO Días	T0	T1	T2	T3
1	5,00E+01	5,00E+01	5,00E+01	2,50E+01
4	5,00E+01	5,00E+01	5,00E+01	2,50E+01
8	5,00E+01	7,50E+01	5,00E+01	5,00E+01
12	5,00E+01	5,00E+01	7,50E+01	5,00E+01
16	7,50E+01	1,00E+02	7,50E+01	5,00E+01
20	7,50E+01	7,50E+01	7,50E+01	5,00E+01
24	1,00E+02	7,50E+01	7,50E+01	1,00E+02
28	1,00E+02	7,50E+01	7,50E+01	7,50E+01
32	1,00E+02	7,50E+01	7,50E+01	7,50E+01
36	1,00E+02	7,50E+01	7,50E+01	7,50E+01
40	1,00E+02	7,50E+01	7,50E+01	7,50E+01
44	1,00E+02	7,50E+01	1,00E+02	7,50E+01
48	1,00E+02	7,50E+01	7,50E+01	7,50E+01
52	1,25E+02	7,50E+01	7,50E+01	7,50E+01
56	1,00E+02	1,00E+02	7,50E+01	7,50E+01
60	7,50E+01	7,50E+01	7,50E+01	1,00E+02
Vida Útil Días	4	4	4	7

E. BENEFICIO COSTO:

CUADRO 16. BENEFICIO - COSTO (DÓLARES) EN LA ELABORACIÓN DE PULPA DE GUANÁBANA CON PROBIÓTICOS *Lactobacillus casei*.

Descripción	Cant	Unidad	Control	Niveles de PROBIOTICOS		
				0,50%	1%	1,50%
Materiales Directos						
Fruta	40000	kg	5000	5000	5000	5000
Probióticos	300	kg	0,0	12500	25000	37500
Ácido Cítrico	22222	gramos	555,6	555,6	555,6	555,6
Sorbato potasio	22222	gramos	166,7	166,7	166,7	166,7
Envoltura	88,00	millar	880,0	880,0	880,0	880,0
Suministros						
Agua Purificada		botellón	37,04	37,04	37,04	37,04
	370,37	n				
Agua Potable	91,00	m3	227,50	227,50	227,50	227,50
Energía	3900	kW/h	107,25	107,25	107,25	107,25
Gas	12,00	C/día	7,50	7,50	7,50	7,50
Materiales Indirectos						
Desinfectante	6,00	galón	15,00	15,00	15,00	15,00
Detergente	6,00	galón	15,00	15,00	15,00	15,00
Mano de Obra						
Obrero	12,00	meses	1092	1092	1092	1092
Técnico	12,00	oper	2250	2250	2250	2250
Equipos e Instalaciones						
Depreciación						
Despulpadora	1,00	Unidad	33,33	33,33	33,33	33,33
Empacadora	1,00	unidad	66,67	66,67	66,67	66,67
Congelador	1,00	Unidad	166,67	166,67	166,67	166,67
Área de trabajo	220	m2	250,00	250,00	250,00	250,00
Balanza	1,00	unidad	14,29	14,29	14,29	14,29
Ollas	6,00	unidad	9,00	9,00	9,00	9,00
Materiales	*	unidad	3,12	3,12	3,12	3,12
Total			10896,5	23396,5	35896,5	48396,5
			8	8	8	8
Costos por kg			1,24	1,95	2,99	4,03
costo por unidad 500g			0,54	0,97	1,50	2,02
Precio / kg			3,60	3,60	3,60	3,60
Beneficio / costo			1,91	0,85	0,20	-0,11

Este análisis beneficio costo se lo realizo por un año se lo realizo viendo la necesidad de tener datos más reales al experimento.

De acuerdo al análisis económico que se realiza a la pulpa de guanábana elaborada con distintos niveles de probióticos *Lactobacillus casei*, se puede observar que el costo de producción por kg de pulpa de guanábana aumenta en forma considerable por cuanto de 1.24 USD que es el costo de producción del tratamiento control, aumenta a 1,95 USD con el nivel 0.5%, a 2,99 USD con el nivel 1%, y a 4,03 USD al emplearse el 1.5% de probióticos *Lactobacillus casei*, esto debido al precio del probiótico mientras más aumenta del nivel del probiótico el valor de producción tiende a aumentar, (Cuadro 16).

Mediante el indicador beneficio costo (B/C), se determina que la mayor rentabilidad se obtiene al producir pulpa de guanábana con el 0% de probióticos registrándose un beneficio costo de 1,91 USD, pero debemos tomar en cuenta que este producto no contiene ninguna propiedad probiótico, mientras que al utilizar el 0.5% de probiótico se reduce a 0.85 centavos de dólar, y se reduce en 0,20 centavos de dólar al utilizar el 1% de probióticos, mientras que al utilizar el 1.5% de probióticos tenemos un beneficio costo negativo de 0,11 centavos de dólar, esto debido a que en el mercado aun no existen pulpas de frutas comerciales con adición de probióticos, las cuales incrementarían su valor económico debido a las propiedades de los probióticos en general considerándose como una pulpa de fruta funcional.

V. CONCLUSIONES:

1. La utilización de *Lactobacilos casei* en la pulpa de Guanábana permitió registrar pH entre 3,5 y 3,86 y una acidez entre 111 °D y 100,13°D, determinándose un producto apto para el consumo según estos parámetros físico - químicos evaluados, estos valores son adecuados para la fabricación de pulpas en la industria alimenticia ya que la concentración de sólidos solubles (°Brix) es la óptima, al igual que el pH y acidez están dentro de los parámetros para la obtención de un buen producto.
2. La utilización de *Lactobacillus casei* en niveles de 0,5%, 1% y 1,5 %, no difiere significativamente en la aceptabilidad de la pulpa de Guanábana, por lo que se manifiesta que este tipo de bacterias probióticas no influyen en las características organolépticas de la pulpa, mediante la catación realizada, muestra un gran nivel de aceptación del producto por parte del consumidor obteniendo resultados favorables con respecto al color, olor, sabor textura y apariencia de la pulpa de guanábana.
3. Según las características, físico - químicas y microbiológicas, la pulpa de guanábana tiene una vida útil óptima a los 60 días por lo que el producto es consumible y apto, bajo un medio de congelación.
4. La utilización de 0,5, 1,0 y 1,5% *Lactobacillus casei* en la elaboración de pulpa de guanábana influyó significativamente entre los tratamientos pero no influye en las características físico – químicas, microbiológicas y organolépticas, por lo que al utilizar el máximo nivel 1,5% no afecta a la calidad de la pulpa de guanábana, siendo así una buena oportunidad para obtener alimentos funcionales de gran aceptación, dirigidos a mejorar la salud de la población.
5. La mayor rentabilidad en la producción de la pulpa de guanábana, se consigue al trabajar con el tratamiento control pero sin ningún beneficio funcional, mientras que al utilizar el 0.5% y el 1% de probióticos se obtiene un beneficio costo positivo, mientras que al utilizar el 1.5% de probióticos tenemos un beneficio

costo negativo, este producto deberá ser valorado como una nueva alternativa en un mercado donde exista conciencia sobre los alimentos funcionales y beneficiarse del mismo así su utilidad aumentaría.

VI. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda utilizar hasta el 1,5% de este nivel de *Lactobacillus casei* en la pulpa de frutas puesto que este nivel de bacterias probióticas benéficas no influyen negativamente en las características físico químicas del producto.
2. Igualmente se recomienda utilizar hasta un nivel de 1,5 % *Lactobacillus casei*, ya que no causa efecto alguno en las características organolépticas.
3. En vida útil microbiológica mediante el modelo matemático, la pulpa de guanábana se mantiene constante en los tratamientos 0%, 0,5% y 1% no muy lejos de la normativa, mientras que el tratamiento 1,5% tiene una vida útil mas prolongada, se recomienda utilizar un medio de conservante para alargar así la vida útil del producto.
4. Debido a que los diferentes niveles de *Lactobacillus casei*, no influyó en las características físico químicas de la pulpa de guanábana, se recomienda hacer investigaciones en futuros trabajos de estabilidad y proliferación de bacterias ácido lácticas en pulpas de frutas, con el fin de determinar una formulación adecuada además de condiciones de almacenamiento.
5. A la población en general se recomienda consumir pulpa de frutas con adición de probióticos ya que posee propiedades probióticas, cubriendo las necesidades al igual que otros alimentos en el sistema gastrointestinal que organismo necesita.

VII. LITERATURA CITADA.

1. ALVAREZ, G. 2014. unl.edu.ec. Disponible en http://unl.edu.ec/sites/default/files/investigacion/revistas/2014-9-5/7_articulo_de_investigacion_-_54_-_62_c2.pdf
2. ALVÍDREZ, A. GONZÁLEZ, B. Y JIMÉNEZ, Z. 2002. medigraphic. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/revsalpubnut/spn-2002/spn023g.pdf>
3. ANDERSSON, H. 2001. Health effects. En H. e. studies, Health effects of probiotics and prebiotics: A literature review on human studies (págs. 45: 58-75).
4. APOLINAR, J. 2010. Universidad Nacional de Colombia. Disponible en <http://www.bdigital.unal.edu.co/3138/1/293693.2010.pdf>
5. ARAYA, H. Y MARIANE, L. 2003. ALIMENTOS FUNCIONALES Y SALUDABLES. scielo, 2. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-7518200300010000
6. AUPEC. 2016. Agencia Universitaria de Periodismo Científico. Disponible en: <https://aupec.univalle.edu.co/informes/2003/diciembre/guanabana.html>
7. BRAVERMAN, V. 2001. Alimentos saludables: treinta años de su existencia en el mercado. En Braverman, Alimentos saludables: treinta años de su existencia en el mercado (págs. 1-19).
8. CAGIGAS, A. Y ANESTO, J. 2002. Revista Cubana Aliment Nutr 2002. Revista Cubana Aliment Nutr 2002. Disponible en http://bvs.sld.cu/revistas/ali/vol16_1_02/ali10102.pd
9. CASTEJÓN, E. 2012. scpediatria. Disponible en: <http://www.scpediatria.cat/primaria/wp-content/uploads/PROBIOTICOS.pd>

10. CHANDLER, W. 1962. Frutales de hoja perenne. En W. Chandler. México: UTEH.
11. CHARTERIS, W. KELLY, P. Y MORELLI, L. 1998. Development and application of an in vitro methodology to determine the transit tolerance of potentially probiotic Lactobacillus and Bifidobacterium species in the upper human gastrointestinal tract. Journal of Applied Microbiology., 759-768.
12. CKOTILAINEN, L. 2006. centro de referencia para lactobacilus. En L. CKotilainen, Health enhancing foods:Opportunities for strengthening the sector in developing countries. (pág. 30). Disponible en http://www.cerela.org.ar/ciencia/p_tipos.htm
13. COLLINS, J. 1998. Selection of probiotic strains for human applications. En C. JK, Selection of probiotic strains for human applications (págs. 487-490).
14. CRUZ, A. ANTUNES, A. SOUSA, A. Y FARIA, J. 2009. Ice-cream as a probiotic food carrier. . Food Research International., 42-49.
15. DESCALZI. 2013. cimpaltda. Disponible en: <http://www.cimpaltda.com/modulo/cultivos/l%20paracasei%20pc%2037%20LYO%2050%20DCU.pdf>
16. DO ESPIRITU-SANTO. 2011. Influence of food matrices in probiotic viability- A review focusing in the fruity bases. Food Science & technology, 1-9.
17. FAO. 2005. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Norma general del codex para zumos (jugos) y néctares de frutas. Disponible en: www.fao.org/input/download/standards/10154/CXS_247s.pdf
18. FAO. 2002. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Probióticos en los alimentos Propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/009/a0512s/a0512s00.pdf>

19. FAO, OMS. 2001. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura y Organización mundial de la salud. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-a0512s.pdf>
20. FRANCISCO, J, RODRÍGUEZ, M. 2010. Scielo. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v15n3/pla09310.pdf>
21. GILL, C. 2006. Microbiology of frozen foods. En Handbook of Frozen Food Processing and Packaging. Boca Raton, Florida.: g. S. Da-Wen.
22. HEENAN, C. 2004. Survival and sensory acceptability of probiotic microorganisms in a nonfermented frozen vegetarian dessert. En C. Heenan, Survival and sensory acceptability of probiotic microorganisms in a nonfermented frozen vegetarian dessert (págs. 461-466.).
23. HEKMAT, S. Y MCMAHON, D. 1992. Survival of Lactobacillus. Journal of Dairy Science., 75-76.
24. HERNANDEZ, V. 2017. Preparation of a whey-based probiotic product with Lactobacillus reuteri and Bifidobacterium bifidum. Journal Food Technology Biotechnological., vol 45, 27-31.
25. HOGG, M. 2014. New Lactobacillus plantarum 299v and Lactobacillus casei studies show health benefits. The Environmental Illness Resource. Disponible en: http://www.ehowenespanol.com/lactobacillus-casei-sobre_51340/
26. HOLZAPFEL, W. 1998. Overview of gut and probiotics. international Journal of Microbiology, 85 - 101.
27. HOMAYOUNI, A. EHSANI, A. AZIZI. Y YARMAND. 2008. Growth and survival of some probiotic strains in simulated ice cream conditions. Journal of Applied Science, 379 - 382.
28. INEN 2337, N. 2. (2008). Instituto de normalización ecuatoriana. Disponible en: <http://archive.org/stream/ec.nte.2337.2008#page/n7/mode/2up>

29. INIAP. (2014). Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. disponible en: <http://tecnologia.iniap.gob.ec/index.php/explore-2/mfruti/rguanabana>
30. LUCKOW, T. Y DELAHUNTY, C. 2006. Which juice is healthier? A consumer study of probiotic non–dairy juice drinks. En T. D. Luckow, Which juice is healthier? A consumer study of probiotic non–dairy juice drinks. (págs. 751–759). 15.
31. LUJÁN, M. CORIA, S. KLEINJAN, V. Y OCHOA, M. 2015. Publitec. Ensayos de simulación de digestión. Disponible en: http://publitec.com.ar/system/noticias.php?id_prod=592
32. MARTÍNEZ, C. PELÁEZ, C. Y REQUENA, T. 2012. Disponible en.: http://www.sepyp.es/pdf/probioticos_y_Salud_humana_sepyp2012.pdf
33. MASÍS, M. Y SEDÓ, P. 2002. El mercado de los alimentos funcionales y los nuevos retos para la educación. scielo. Disponible en: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S1409-14292002000100004&script=sci_arttext&tlng=en
34. MENDOZA, K. 2015. repositorio. Disponible en: http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/UCV/117/1/mendoza_vk.pdf
35. MIPRO. 2011. Ministerio de industrias y productividad. Disponible en: <https://www.flacso.edu.ec/portal/pnTemp/PageMaster/f3aum4sqz8ls6rsximf6khej5eeefz.pdf>
36. MOREU, M. 2012. pulevasalud. Disponible en: <http://www.pulevasalud.com/ps/revista/2011/09/alimentosaz.pdf>
37. MORTON, J. 1987. Soursop: In: Fruits of Warm Climates. En J. F. Morton. Miami, Florida.: ISBN: 0-9610184-1-0.
38. OLAGNERO, G. 2007. fmed. Disponible en: http://www.fmed.uba.ar/depto/nutrinormal/funcionales_fibra.pdf

39. PABLO F. HERRERA, G. 2014. bibliotecadigital. Disponible en: https://bibliotecadigital.icesi.edu.co/biblioteca_digital/bitstream/10906/78872/1/T00179.pdf
40. PEREIRA, F. 2011. Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with lactobacillus casei. Food Research International, 1276-1283.
41. PROECUADOR. 2012. Proecuador. Disponible en: http://www.proecuador.gob.ec/wp-content/uploads/2013/11/PROEC_AS2012_FRUTAS.pdf
42. REID, G. 2008. Probiotics and Prebiotics – Progress and Challenges. . International Dairy Journal., 969-975.
43. RODGERS, S. 2007. Incorporation of probiotics in food service products: an. En S. Rodgers, Incorporation of probiotics in food service products: an (págs. 108-118).
44. SAMANIEGO, L. Y SOSA DEL CASTILLO, M. 2014. monografias. Disponible en: <http://monografias.umcc.cu/monos/2001/mono11.pdf>
45. SCHILLINGER, S. 1995. Biogolical preservation of foods with reference to protective cultures, bacteriocins, and food-grade enzymes. International Jourdal of Food Microbiology, 24, 343-362.
46. SERNA, J. 2012. unisabana. Elaboracion de Jugo de frutas con adiccion de baterias acido laticas con potencial probioticos. Disponible en: <http://intellectum.unisabana.edu.co/handle/10818/3633>
47. SERRA, B. FERRER Y DALMAU. 2001. inocua. Disponible en: <http://www.inocua.org/site/Archivos/investigaciones/Alim%20funcional%20probioticos.pdf>
48. SHAH, N. DING, W. FALLOURD, M. Y LEYER, G. 2010. Improving the Stability of Probiotic Bacteria in Model Fruit Juices Using Vitamins and Antioxidants. Journal of Food Sciencie, M278-M282.

49. SHEEHAN, V. 2006. Exposure, health information and flavour-masking strategies for improving the sensory quality of probiotic juice. En T. Luckow.
50. SHEEHAN, V. 2007. Assessing the acid tolerance and the technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit juices. . En V. Sheehan, Innovative Food Science & Emerging Technologies. (págs. 279-284). 8.
51. TUORILA. Y CARDELLO, A. 2002. Consumer Response to an Flavour in Juice in the Presence of Specific Health Claims. Food Quality and Preference. En H. & Tuorila, Consumer Response to an Flavour in Juice in the Presence of Specific Health Claims. Food Quality and Preference (págs. 561-569.). 13.
52. UZCÁTEGUI. 2007. Estudio de factibilidad para la implementación de una empresa. En Uzcátegui.

ANEXOS

Anexo 1. Descripción Cultivo láctico probiótico concentrado liofilizado para aplicaciones lácteas y bebidas.

Descripción

Cultivo láctico probiótico concentrado liofilizado para aplicaciones lácteas y bebidas.

DESCALZI	FICHA TECNICA L. Paracasei Lpc 37 LYO 50 DCU	CI – 260 / 02
		Versión 001
		Página 1 de 4
		Fecha de Emisión: 25-04-13

Áreas de aplicación

Lácteos.

Beneficios

Aporte de alegaciones probióticas.

Dosis

Alegación funcional por porción.

Instrucciones de uso

Conservar a temperatura <4°C en ambiente seco.

Cuando conserve a temperatura bajo cero, mantenga el sachet a temperatura ambiente por 30 a 60 minutos antes de abrir, de lo contrario puede afectar su funcionamiento. Exposiciones prolongadas a temperatura ambiente reducen la fuerza del cultivo. Controle antes de usar que el cultivo tenga forma de polvo. Adicionar directamente a la leche. Evite la formación de aire y espuma en la leche.

Recomendación importante: Si se formó una masa sólida en el producto, no utilizarlo. Para controlar la contaminación de bacteriófagos, asegurar que la planta y los equipos estén limpios y desinfectados con productos apropiados a intervalos regulares. Evitar cualquier sistema que regrese suero a la línea de proceso para limitar la propagación de fagos. No aceptamos ninguna responsabilidad en caso de aplicación indebida.

Composición

Lactobacillus paracasei subsp. Paracasei comúnmente llamado lactobacillus casei.

Especificaciones físico-químicas

No aplica.

Especificaciones microbiológicas

Control de calidad Microbiológico - métodos y valores estándar.

Contenido de bacterias probióticas	$\geq 1.0E+11$ /DCU
Enterobacterias	< 10 CFU/g
Enterococci	< 10 CFU/g
Coagulase-positive	< 10 CFU/g
Staphylococci	
Aerobic sulphite-reductor	< 10 CFU/g
Levaduras	< 10 CFU/g
Mohos	< 10 CFU/g
Listeria monocytogenes	neg. / 25 g
Salmonella	neg. / 25 g

Especificaciones de metales pesados

No aplica.

Datos nutricionales

No aplica.

Almacenamiento

18 meses desde la fecha de producción a $\leq -18^{\circ}\text{C}$

6 meses desde la fecha de envío a $+ 4^{\circ}\text{C}$

Embalaje

Los sobres están hechos con 3 capas de material (polietileno, aluminio y poliéster). La siguiente información está impresa en cada sachet, nombre del producto, dosis, tamaño de envase, N° de lote y vida útil a -18°C.

Cantidad

Unidad de venta: 1 caja con 50 sobres.

Pureza y legislación

L. Paracasei Lpc 37 LYO 50 DCU cumple con la normativa de la UE.

Las regulaciones locales sobre este producto deberían ser siempre consultadas, ya que la legislación en cuanto al uso en la alimentación puede variar en función de cada país.

Seguridad y manipulación

La ficha de seguridad está disponible bajo petición.

País de origen

Francia

Certificación Kosher

Certificación KOSHER OUD.

GMO

L. Paracasei Lpc 37 LYO 50 DCU no consiste, no contiene, no está producido por organismos genéticamente modificados de acuerdo a la Regulación 1829/2003 (UE) y la Regulación 1830/2003 (UE) del Parlamento Europeo en la Reunión del 22 de septiembre del 2003.

Para las materias primas que tengan el potencial de ser producidas a partir de organismos modificados genéticamente, hemos obtenido información escrita de nuestros proveedores que indican que las materias primas no son producidas a partir de organismos modificados genéticamente de acuerdo con la definición de Regulaciones EC arriba indicadas.

Información adicional Certificación ISO 9001

Alérgenos

Esta tabla indica la presencia de los productos alérgenos y derivados siguientes:

Si	No	Alérgenos	Descripción de los componentes
	X	Trigo	
	X	Otros cereales que contengan gluten	
	X	Crustáceos	
	X	Huevos	
	X	Pescado	
	X	Cacahuetes	
	X	Soja	
X		Leche (incluida la lactosa)	
	X	Frutos de cascara	
	X	Apio	
	X	Mostaza	

	X	Granos de sésamo	
	X	Dióxido de azufre y sulfitos (>10mg/kg)	
	X	Altramuces	
	X	Moluscos	

Las regulaciones locales deberán siempre ser consultadas ya que los requerimientos de etiquetado de alérgenos pueden variar en función del país.



CIMPA S.A.S, declara que los resultados reportados en el presente certificado, son tomados de la información suministrada por nuestro Proveedor, por lo tanto se fundamenta en sus técnicas de análisis autorizados. Dicha información no exime a Nuestros Clientes de realizar sus propios análisis.

Anexo 2. Hoja guía de la Catación a los panelistas.

HOJA DE CATACION

Nombre:

Hora:

Fecha:

Frente a usted tendrá cuatro muestras de Pulpa de Guanábana, pruébelas una a una y califique los siguientes parámetros según su apreciación.

Recuerde: Enjuagar la boca con un sorbo de agua al inicio de la cata y al cambiar de muestra.

Marque con una **X** considerando la siguiente escala de valoración:

5: Excelente **4:** Muy bueno **3:** Bueno **2:** Regular **1:** Malo

codigos					
COLOR	5				
	4				
	3				
	2				
	1				
OLOR	5				
	4				
	3				
	2				
	1				
SABOR	5				
	4				
	3				
	2				
	1				
TEXTURA	5				
	4				
	3				
	2				
	1				
CARÁCTER APETECIBLE	5				
	4				
	3				
	2				
	1				

Comentarios: _____

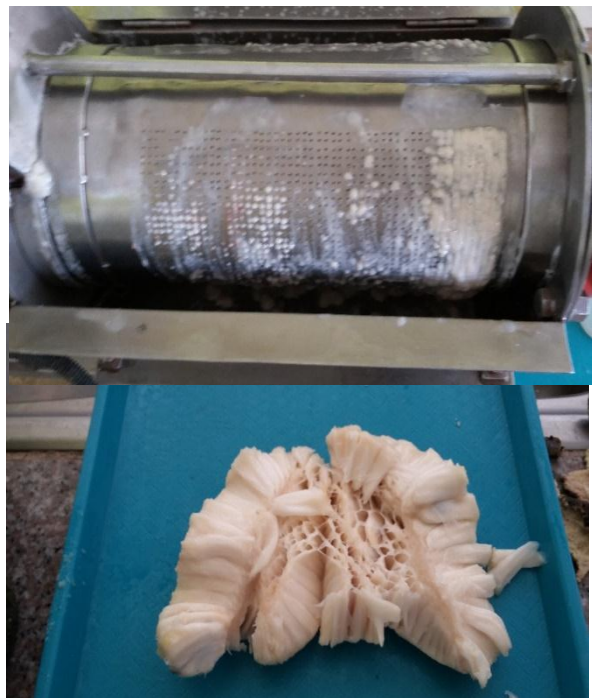
Anexo 3. Evidencia Fotográfica Proceso de la Elaboración de la pulpa de Guanábana con adición de Probióticos.

Proceso de recepción clasificación y selección de la Guanábana



Proceso de recepción clasificación y selección de la Guanábana

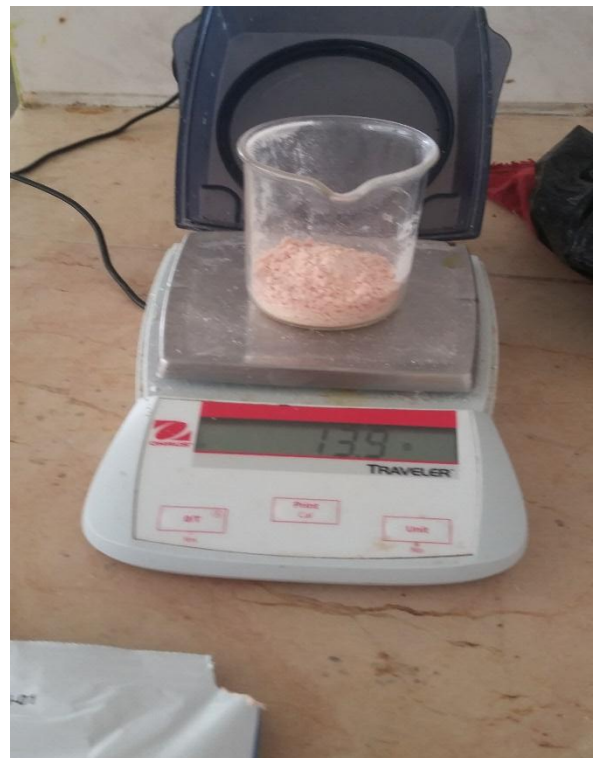
Proceso de pelado y desemmido de la Guanábana



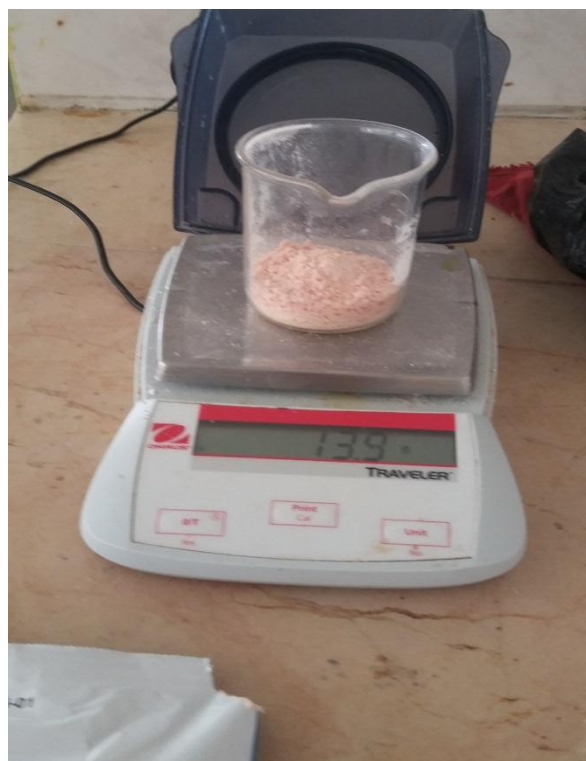
Proceso de despulpado de la Guanábana



Proceso de pasteurizado de la pulpa Guanábana



Proceso de pesado y adición del probiótico en la pulpa de la Guanábana



Proceso de inoculación a 40°C

Proceso de pesado empacado y sellado de la pulpa de guanábana





Proceso de almacenado de la pulpa de guanábana

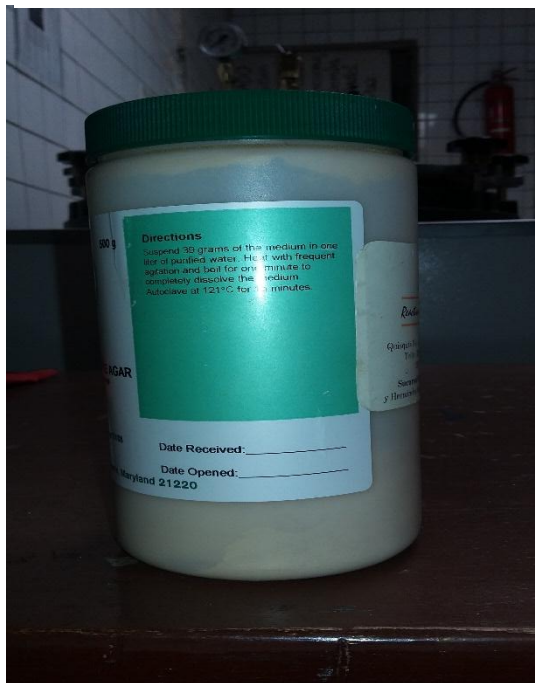
Anexo 4. Evidencia Fotográfica de los Análisis físicos - Químicos y Catación de la pulpa de Guanábana con adición de Probióticos, en el laboratorio de procesamiento de alimentos facultad de ciencias pecuarias, ESPOCH.



Sala de Catación



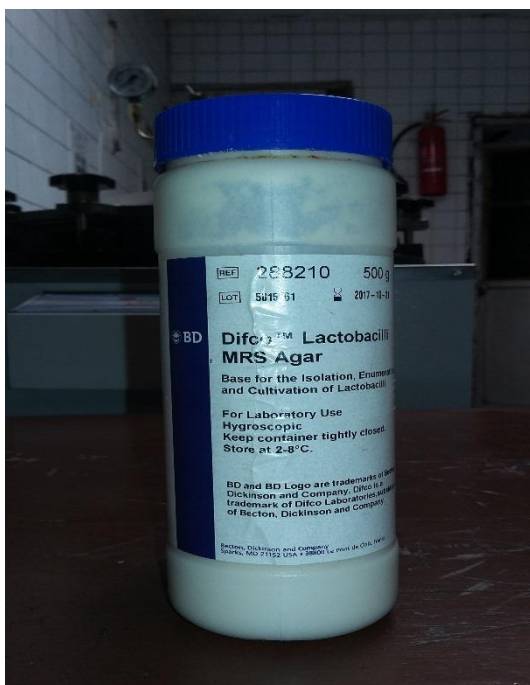
Anexo 5. Evidencia Fotográfica de los Análisis Microbiológicos de la pulpa de Guanábana con adición de Probióticos, en el laboratorio de microbiología de los alimentos, facultad de ciencias pecuarias, ESPOCH.



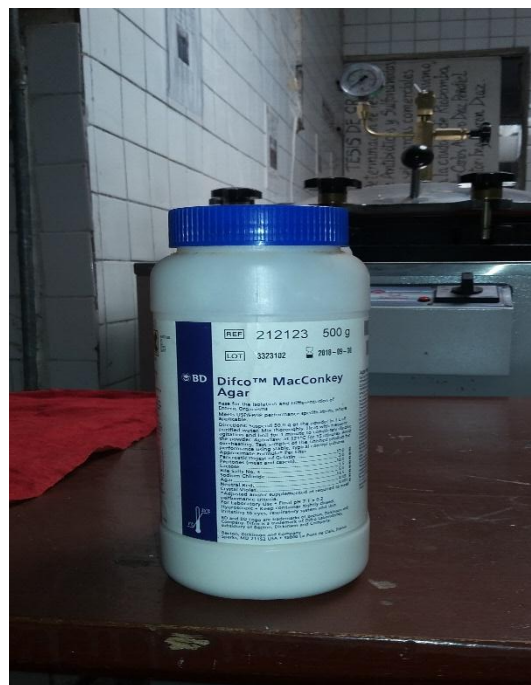
Agar PCA



Agar PDA



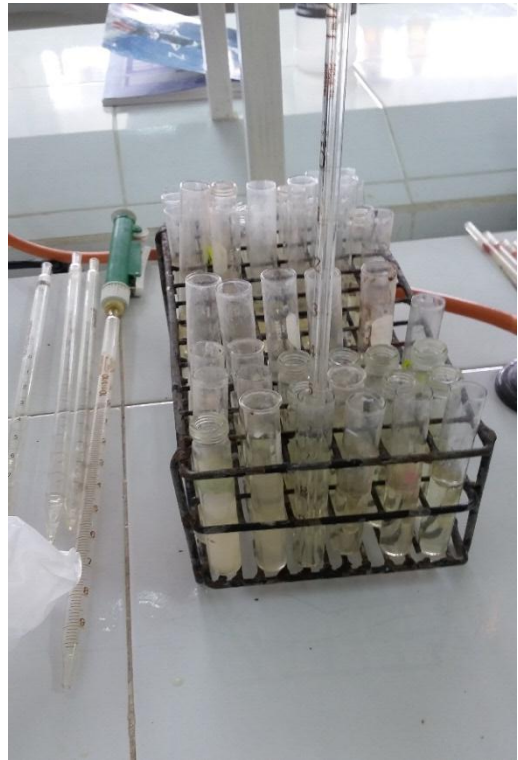
Agar MRS



Agua peptonada



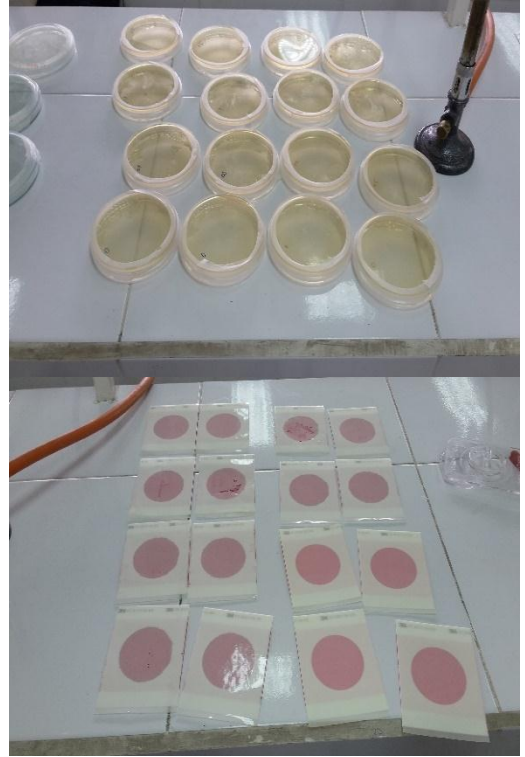
Auto clavado de materiales

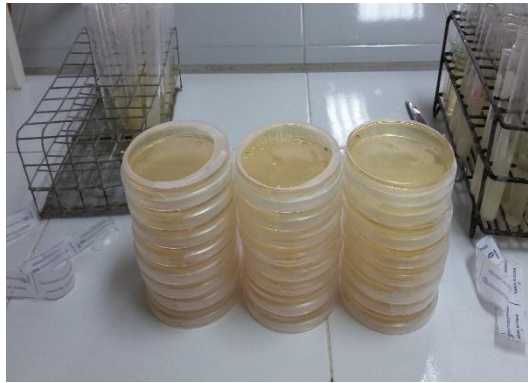


Disoluciones de la muestra

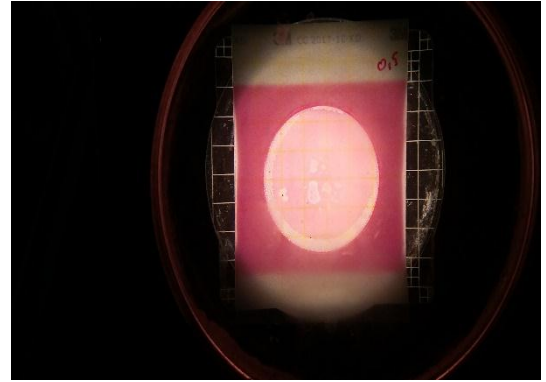
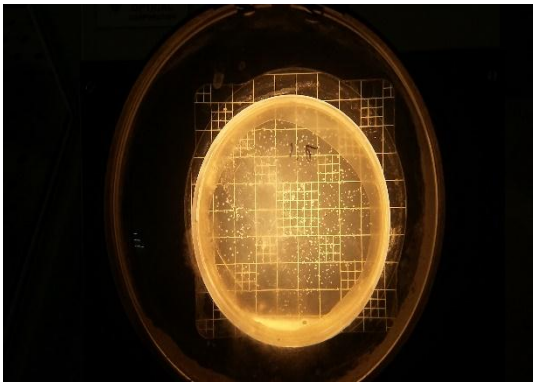


Siembra en las cajas Petri con PCA, PDA, MRS y placas petri coliformes totales





Codificar según el medio y colocar en la estufa por 48 horas



Reconteo de colonias y cálculos de los diferentes medios



Esterilización y lavado de las cajas Petri y materiales

Anexo 6. Análisis de varianza de las propiedades físico-química del experimento.
Día 60

°Brix

Tratamiento	Repeticiones			
	I	II	III	IV
0,00	14,00	14,00	14,30	14,00
0,00	14,10	14,10	14,35	14,20
0,00	14,00	14,50	14,00	14,20
0,00	14,00	14,20	14,00	14,00

ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Medio	Fisher	P. Fisher
Total	15	0,36			
Tratamiento	3	0,06	0,02	0,76	0,54
Lineal	1	0,00	0,00	0,06	0,81
Cuadrática	1	0,06	0,06	2,21	0,16
Cúbica	1	0,00	0,00	0,00	0,97
Error	12	0,31	0,03		
CV %			1,13		
Media			14,12		

Separación de Medias según Tukey (P < 0,05)

Tratamiento	Media	Grupo
0,00	14,08	a
0,00	14,19	a
0,00	14,18	a
0,00	14,05	a

pH

Tratamiento	Repeticiones			
	I	II	III	IV
0%	3,85	3,75	3,75	3,65
0,5%	3,90	3,80	3,80	3,80
1%	3,80	3,80	3,90	3,90
1,5%	3,90	3,85	3,90	3,80

ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Medio	Fisher	P. Fisher
Total	15	0,07			
Tratamiento	3	0,03	0,01	2,75	0,09
Lineal	1	0,03	0,03	7,11	0,02
Cuadrática	1	0,00	0,00	1,06	0,32
Cúbica	1	0,00	0,00	0,08	0,79
Error	12	0,04	0,00		
CV %			1,59		
Media			3,82		

Separación de Medias según Tukey ($P < 0,05$)

Tratamiento	Media	Grupo
0%	3,75	c
0,5%	3,83	b
1%	3,85	a
1,5%	3,86	a

Acidez

Tratamiento	Repeticiones			
	I	II	III	IV
0%	105,00	103,50	105,00	103,50
0,5%	100,50	103,50	100,50	100,50
1%	100,50	99,00	99,00	103,50
1,5%	99,00	100,50	102,00	99,00

ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Medio	Fisher	P. Fisher
Total	15	70,73			
Tratamiento	3	42,05	14,02	5,86	0,01
Lineal	1	34,45	34,45	14,41	0,00
Cuadrática	1	6,89	6,89	2,88	0,12
Cúbica	1	0,70	0,70	0,29	0,60
Error	12	28,69	2,39		
CV %			1,52		
Media			101,53		

Separación de Medias según Tukey ($P < 0,05$)

Tratamiento	Media	Grupo
0%	104,25	a
0,5%	101,25	c
1%	100,50	c
1,5%	100,13	b

Anexo 6. Análisis de varianza de las propiedades microbiológicas del experimento.

Día 60

Aerobios Mesófilos

Tratamiento	Repeticiones			
	I	II	III	IV
0%	2500,00	3000,00	3000,00	3000,00
0,5%	2000,00	2500,00	2500,00	2000,00
1%	3000,00	2000,00	1500,00	3000,00
1,5%	2500,00	2000,00	2000,00	2500,00

ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Medio	Fisher	P. Fisher
Total	15	3437500,00			
Tratamiento	3	1062500,00	354166,67	1,79	0,20
Lineal	1	612500,00	612500,00	3,09	0,10
Cuadrática	1	250000,00	250000,00	1,26	0,28
Cúbica	1	200000,00	200000,00	1,01	0,33
Error	12	2375000,00	197916,67		
CV %			18,25		
Media			2437,50		

Separación de Medias según Tukey (P < 0,05)

Tratamiento	Media	Grupo
0%	2875,00	a
0,5%	2250,00	a
1%	2375,00	a
1,5%	2250,00	a

Mohos y Levaduras

Tratamiento	Repeticiones			
	I	II	III	IV
0%	100,00	0,00	50,00	200,00
0,5%	50,00	50,00	150,00	150,00
1%	150,00	50,00	100,00	50,00
1,5%	100,00	0,00	150,00	150,00

ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Medio	Fisher	P. Fisher
Total	15	54375,00			
Tratamiento	3	625,00	208,33	0,05	0,99
Lineal	1	125,00	125,00	0,03	0,87
Cuadrática	1	0,00	0,00	0,00	1,00
Cúbica	1	500,00	500,00	0,11	0,74
Error	12	53750,00	4479,17		
CV %			71,39		
Media			93,75		

Separación de Medias según Tukey ($P < 0,05$)

Tratamiento	Media	Grupo
0%	87,50	a
0,5%	100,00	a
1%	87,50	a
1,5%	100,00	a

Bacterias Ácido Lácticas

Tratamiento	Repeticiones			
	I	II	III	IV
0%	0,00	0,00	0,00	0,00
0,5%	455000,00	325000,00	422500,00	260000,00
1%	617500,00	552500,00	552500,00	650000,00
1,5%	1690000,00	1495000,00	1820000,00	1690000,00

ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Medio	Fisher	P. Fisher
Total	15	6,30E+12			
Tratamiento	3	6,22E+12	2,07E+12	292,50	0,00
Lineal	1	5,51E+12	5,51E+12	777,61	0,00
Cuadrática	1	5,11E+11	5,11E+11	72,15	0,00
Cúbica	1	1,97E+11	1,97E+11	27,73	0,00
Error	12	8,50E+10	7,09E+09		
CV %			12,79		
Media			658125,00		

Separación de Medias según Tukey (P < 0,05)

Tratamiento	Media	Grupo
0%	0,00	d
0,5%	365625,00	c
1%	593125,00	b
1,5%	1673750,00	a

Anexo 7. Análisis de varianza de las propiedades organolépticas del experimento.

COLOR

Tratamiento	Repeticiones			
	I	II	III	IV
0%	3,50	4,00	4,17	4,33
0,5%	3,67	3,50	3,83	4,00
1%	3,33	4,17	3,67	3,83
1,5%	3,33	3,83	3,50	3,50

ADEVA					
F. Var	gl	S. Cuad	C. Medio	Fisher	P. Fisher
Total	15	1,44			
Tratamiento	3	0,42	0,14	1,65	0,23
Lineal	1	0,38	0,38	4,44	0,06
Cuadrática	1	0,00	0,00	0,02	0,89
Cúbica	1	0,04	0,04	0,49	0,50
Error	12	1,02	0,09		
CV %			7,76		
Media			3,76		

Separación de Medias según Tukey ($P < 0,05$)

Tratamiento	Media	Grupo
0%	4,00	a
0,5%	3,75	a
1%	3,75	a
1,5%	3,54	a

OLOR

Tratamiento	Repeticiones			
	I	II	III	IV
0%	3,67	3,50	4,00	3,67
0,5%	3,50	3,17	4,17	3,50
1%	3,50	3,83	3,83	3,83
1,5%	4,00	4,00	3,83	3,50

ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Medio	Fisher	P. Fisher
Total	15	1,04			
Tratamiento	3	0,13	0,04	0,57	0,64
Lineal	1	0,06	0,06	0,77	0,40
Cuadrática	1	0,04	0,04	0,57	0,46
Cúbica	1	0,03	0,03	0,37	0,55
Error	12	0,91	0,08		
CV %			7,40		
Media			3,72		

Separación de Medias según Tukey ($P < 0,05$)

Tratamiento	Media	Grupo
0%	3,71	a
0,5%	3,58	a
1%	3,75	a
1,5%	3,83	a

SABOR

Tratamiento	Repeticiones			
	I	II	III	IV
0%	3,67	3,50	4,00	3,67
0,5%	3,50	4,00	4,17	3,33
1%	3,50	3,83	3,33	4,00
1,5%	4,00	3,33	3,17	2,67

ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Medio	Fisher	P. Fisher
Total	15	2,33			
Tratamiento	3	0,53	0,18	1,19	0,35
Lineal	1	0,36	0,36	2,38	0,15
Cuadrática	1	0,17	0,17	1,16	0,30
Cúbica	1	0,01	0,01	0,04	0,85
Error	12	1,79	0,15		
CV %			10,72		
Media			3,60		

Separación de Medias según Tukey ($P < 0,05$)

Tratamiento	Media	Grupo
0%	3,71	a
0,5%	3,75	a
1%	3,67	a
1,5%	3,29	a

TEXTURA

Tratamiento	Repeticiones			
	I	II	III	IV
0%	3,50	3,50	4,00	4,00
0,5%	3,33	3,50	4,00	3,67
1%	3,50	3,33	4,00	3,67
1,5%	4,00	3,17	3,50	3,67

ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Medio	Fisher	P. Fisher
Total	15	1,16			
Tratamiento	3	0,06	0,02	0,23	0,88
Lineal	1	0,05	0,05	0,55	0,47
Cuadrática	1	0,01	0,01	0,08	0,79
Cúbica	1	0,01	0,01	0,06	0,81
Error	12	1,10	0,09		
CV %			8,29		
Media			3,65		

Separación de Medias según Tukey ($P < 0,05$)

Tratamiento	Media	Grupo
0%	3,75	a
0,5%	3,63	a
1%	3,63	a
1,5%	3,58	a

CARÁCTER APETECIBLE

Tratamiento	Repeticiones			
	I	II	III	IV
0%	3,00	3,67	2,67	3,33
0,5%	3,83	1,67	2,67	3,17
1%	3,83	3,67	4,00	3,67
1,5%	2,67	3,67	3,67	3,17

ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Medio	Fisher	P. Fisher
Total	15	5,72			
Tratamiento	3	1,90	0,63	1,99	0,17
Lineal	1	0,36	0,36	1,12	0,31
Cuadrática	1	0,03	0,03	0,09	0,77
Cúbica	1	1,51	1,51	4,75	0,05
Error	12	3,82	0,32		
CV %			17,25		
Media			3,27		

Separación de Medias según Tukey ($P < 0,05$)

Tratamiento	Media	Grupo
0%	3,17	a
0,5%	2,83	a
1%	3,79	a
1,5%	3,29	a

TOTAL

Tratamiento	Repeticiones			
	I	II	III	IV
0%	17,33	18,17	18,83	19,00
0,5%	17,83	15,83	18,83	17,67
1%	17,67	18,83	18,83	19,00
1,5%	18,00	18,00	17,67	16,50

ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Medio	Fisher	P. Fisher
Total	15	12,56			
Tratamiento	3	3,49	1,16	1,54	0,26
Lineal	1	0,36	0,36	0,47	0,51
Cuadrática	1	0,06	0,06	0,08	0,78
Cúbica	1	3,07	3,07	4,06	0,07
Error	12	9,07	0,76		
CV %			4,83		
Media			18,00		

Separación de Medias según Tukey (P < 0,05)

Tratamiento	Media	Grupo
0%	18,33	a
0,5%	17,54	a
1%	18,58	a
1,5%	17,54	a