



USO DE UN PROBIÓTICO (*LACTOBACILLUS CASEI*) EN LA ELABORACIÓN DE PULPA DE GUANÁBANA

Autores:

¹ **Quishpe Rosas Cristian Ricardo.**
cristian_rqr@hotmail.com

² **Paredes Peralta Armando Vinicio.**
vinioparedes101@hotmail.com

³ **Erazo Rodríguez Fredy Patricio.**
andriygabi@yahoo.it

⁴ **Barrazueta Rojas Sandra Gabriela.**
sbarrazueta@epoch.edu.ec

Para citar este artículo puede utilizar el siguiente formato:

Quishpe Rosas Cristian Ricardo, Paredes Peralta Armando Vinicio, Erazo Rodríguez Fredy Patricio y Barrazueta Rojas Sandra Gabriela (2019): "Uso de un probiótico (*Lactobacillus casei*) en la elaboración de pulpa de guanábana", Revista Caribeña de Ciencias Sociales (febrero 2019). En línea

<https://www.eumed.net/rev/caribe/2019/02/probiotico-pulpa-guanabana.html>

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 los parámetros de $^{\circ}\text{Brix}$ y acidez, 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 (10^6 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 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 (10⁶ 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, this product should be marketed at a higher price than it has functional properties.

Palabras claves: Probiótico, *Lactobacilos casei*, Organolépticas, Microbiológicas, Físico – química.
Key words: Probiotic, *Lactobacillus casei*, Organoleptic, Microbiological, Physical – chemical.

1. 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 diversas 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 ESPOCH, 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.

¹ Ingeniero en Industrias Pecuarias. Seguridad industrial y Control de Calidad. Investigador

² Ingeniero Zootecnista, Magister en Procesamiento de Alimentos. Docente de la ESPOCH

³ Ingeniero en Industrias Pecuarias, Magister en Procesamiento de Alimentos. Docente de la ESPOCH

⁴ Ingeniera en Alimentos, Magister en Química Agrícola y Nuevos Alimentos. Docente de la ESPOCH

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: (1) Utilizar un probiótico (*Lactobacilos casei*) en la elaboración de pulpa de guanábana para crear un alimento funcional. (2) Evaluar las características físico-químicas de la pulpa de guanábana adicionada con cultivo

probiótico (*Lactobacilos casei*). (3) Establecer el grado de aceptabilidad de la pulpa de guanábana con adición de probiótico (*Lactobacilos casei*) mediante pruebas organolépticas. (4) Evaluar la vida útil de la pulpa de guanábana adicionado con cultivo probiótico (*Lactobacilos casei*) hasta los 60 días. (5) Determinar el nivel óptimo de probiótico (*Lactobacilos casei*) de la pulpa de guanábana empleando 0,5%, 1% y 1,5% en la elaboración. (6) Determinar su rentabilidad mediante el indicador beneficio-costeo.

2. METODOLOGÍA

2.1 LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN DEL EXPERIMENTO

2.1.1 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.

2.1.2 Condiciones meteorológicas.

Cuadro 1. 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).

2.1.3 Duración.

El presente trabajo tuvo una duración de 60 días.

2.2 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.

2.3 MATERIA PRIMA, MATERIALES, EQUIPOS E INSTALACIONES

2.3.1 Materia Prima.

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

2.3.2 Materiales

- Fundas
- Vasos plásticos
- Bandejas
- Lápices y esferos
- Matraces volumétricos
- Espátula
- Envases plásticos
- Códigos
- Paletas
- Hojas de cata
- Pipetas volumétricas
- Pinza

- Varilla de vidrio
- Probeta graduada
- Vaso de precipitación
- Matraz

- Pízetas
- Reloj
- Bureta
- Para film

2.3.3 Equipos

- Despulpadora
- Estufa
- Termómetro
- Refractómetro
- Incubadora
- Computador
- Refrigerador

- Selladora al vacío
- Balanza analítica
- pH metro (Hanna)
- Autoclave
- Selladora
- Computador
- Congelador

2.3.4 Reactivos

- Ácido cítrico
- Fenoltaleína
- Desinfectante

- Sodio hidróxido 0,1 N
- Agua destilada

2.3.5 Medios de cultivo

- Agar PDA (Mohos y levaduras) Agar PCA (Aerobios mesófilos)
- Placas Petri (Coliformes totales) Agar MRS (Bacterias ácido lácticas)

2.3.6 Instalaciones

- Laboratorio de microbiología de los Alimentos
- Laboratorio de alimentos

2.4 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 2. 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

Fuente: Los Autores

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

2.5 MEDICIONES EXPERIMENTALES

Las variables experimentales que se evaluaron fueron las siguientes:

2.5.1 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).

2.5.2 Análisis organoléptico.

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

2.5.3 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)

2.6 VIDA DE ANAQUEL

- Prueba de vida útil

2.7 ECONÓMICO

- Beneficio - costo

2.8 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.

2.8.1 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 3).

Cuadro 3. ANÁLISIS DE LA VARIANZA (ADEVA).

FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD
Total	15
Entre método	3
Error	12

Fuente: Los Autores

2.9 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.

2.10 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.

2.10.1 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.

2.10.2 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 pizeta.
- Escribir el dato del pH-metro en la "Planilla de monitoreo de producto en proceso".
- Apagar el equipo a la posición "Off".

2.10.3 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 fórmula.

%Acidez:

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

Vo

°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

2.10.4 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.

2.10.5 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 disoluciones que se realice.

2.10.6 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.

2.10.7 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.

2.10.8 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.

2.10.9 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.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

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

3.1.1 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 4).

Cuadro 4. CONTENIDO DE AZÚCARES (°Brix) DE LA PULPA DE GUANÁBANA 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

Fuente: Los Autores

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

E.E. Error Estándar.

3.1.2 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 5).

Cuadro 5. CONTENIDO DE pH DE LA PULPA DE GUANÁBANA ELABORADA CON

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

Lactobacillus casei.

Fuente: Los Autores

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).

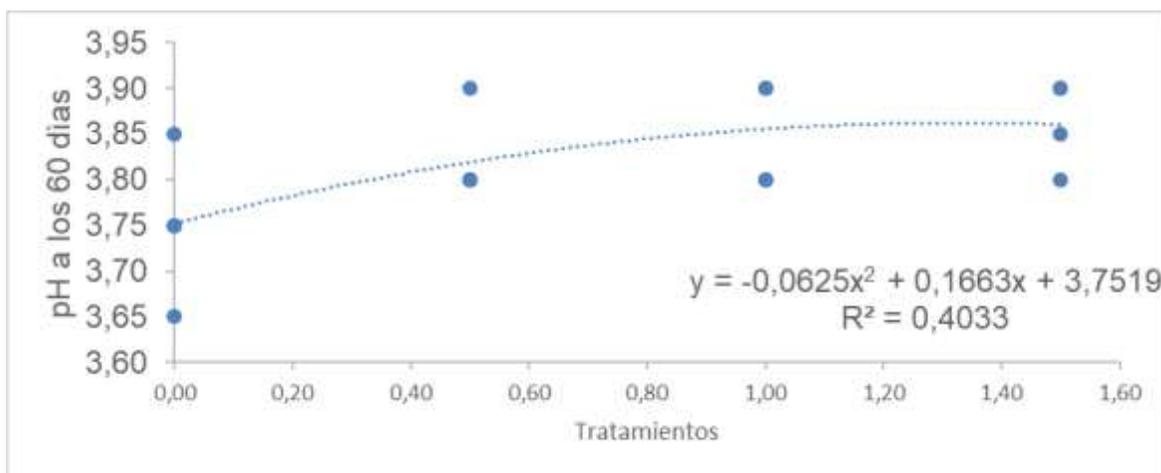


Gráfico 1. pH de la pulpa de guanábana elaborada con *Lactobacillus casei*.

3.1.3 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 6 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 6. 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

Fuente: Los Autores

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).

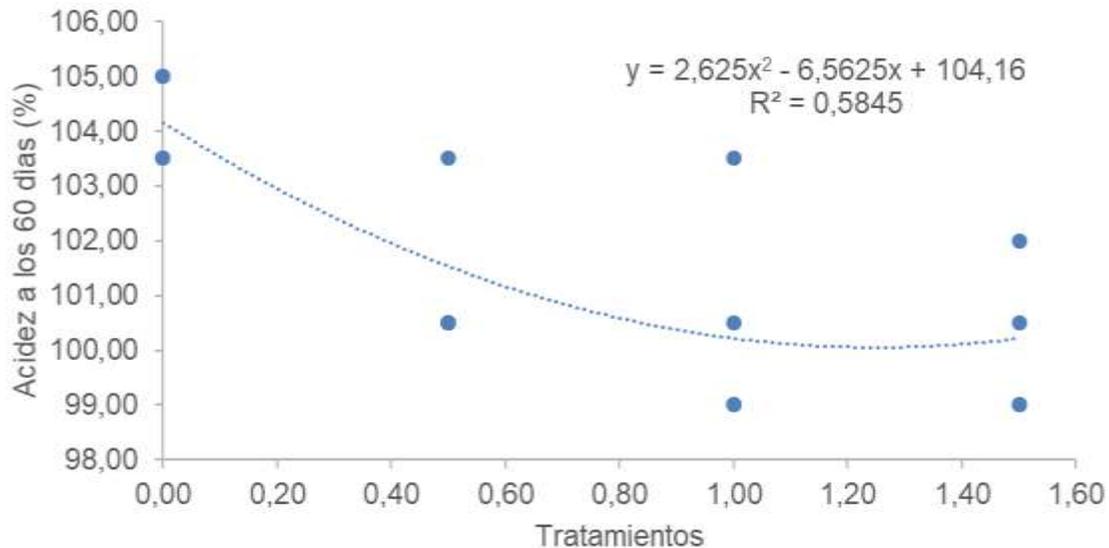


Gráfico 2. Acidez de la pulpa de guanábana elaborada con *Lactobacillus casei*.

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

3.2.1 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.

3.2.2 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 tratamiento al igual se obtuvieron calificaciones de buena y muy buena por parte de los catadores.

3.2.3 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.

3.2.4 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 otras 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 7).

Cuadro 7. CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DE LA PULPA DE GUANÁBANA ELABORADA CON *Lactobacillus casei*.

Variables	Tratamientos				E:E	Pro
	0	0.5	1	1.5		
Olor, Puntos	3.71 a	3.58 a	3.75 a	3.83 a	0.14	0.64
Color, Puntos	4.00 a	3.75 a	3.75 a	3.54 a	0.15	0.23
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

Fuente: Los Autores

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

E.E. Error Estándar

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

3.3.1 Aerobio 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 8. 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 8. 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

Fuente: Los Autores

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

E.E. Error Estándar

3.3.2 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 9, 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 microrganismos patógenos ayudando a la conservación del producto por más tiempo.

Cuadro 9. CONTENIDO DE MOHOS Y LEVADURAS (UP/ml) DE LA PULPA DE GUANÁBANA

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

ELABORADA CON *Lactobacillus casei*.

Fuente: Los Autores

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

E.E. Error Estándar

3.3.3 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 jugo 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 Hodayouni, 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 realizo 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 aumentado.

La inoculación de microorganismo probióticos se la realizo 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 crio protectores 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 10).

Cuadro 10. CONTENIDO DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS EN LA PULPA DE GUANÁBANA

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

ELABORADA CON *Lactobacillus casei*.

Fuente: Los Autores

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).

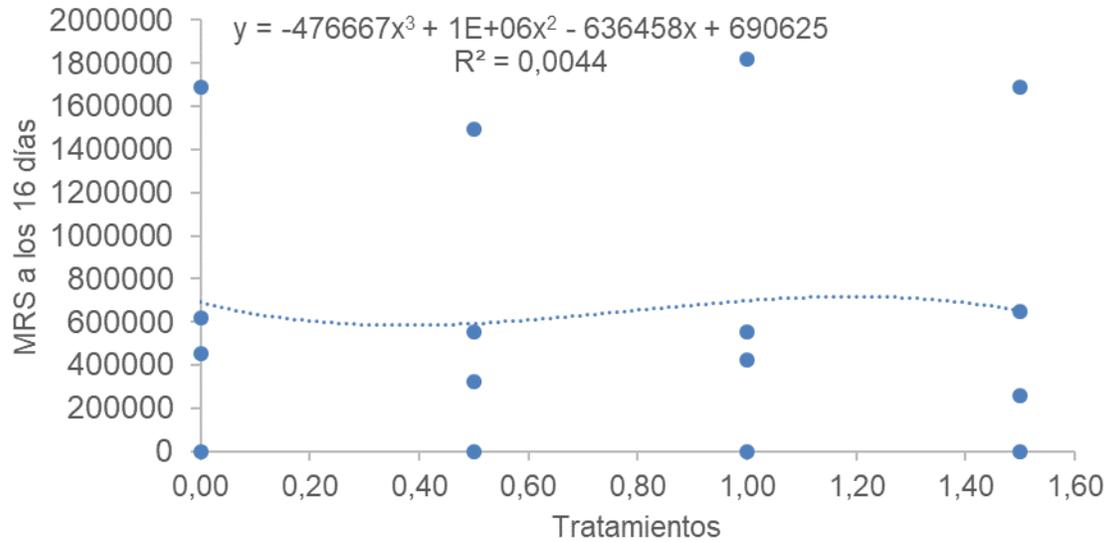


Gráfico 3. Bacterias ácido lácticas de la pulpa de guanábana elaborada con *Lactobacillus casei*.

3.3.4 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).

3.4 VIDA ANAQUEL

3.4.1 °Brix

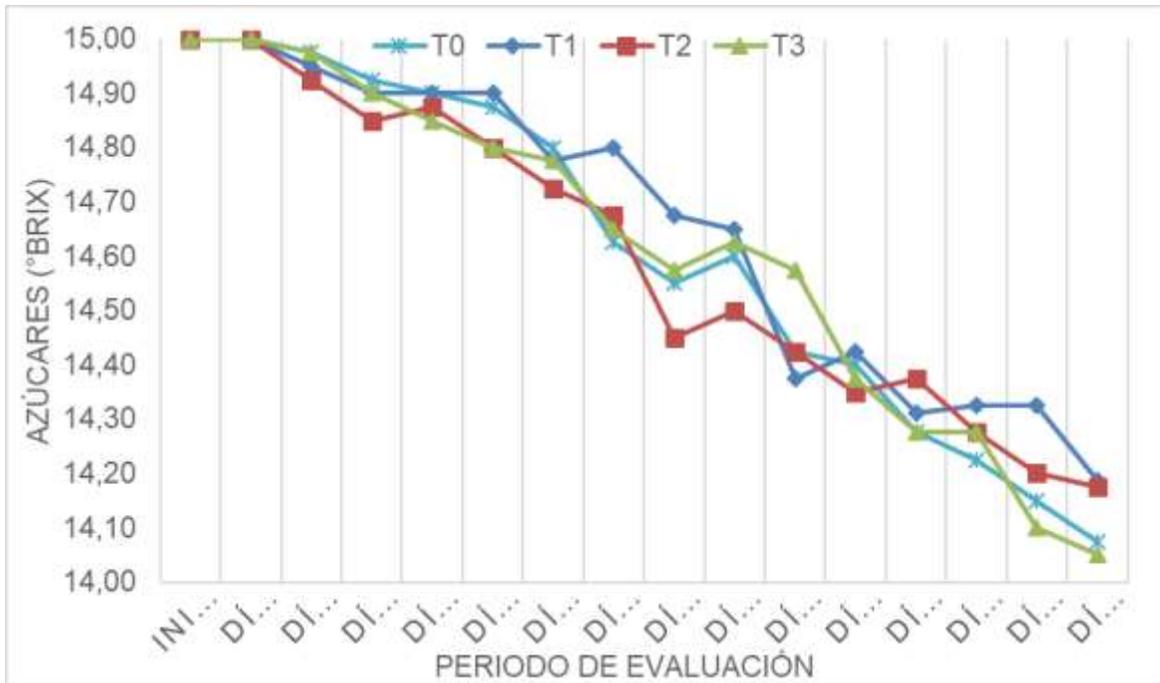


Gráfico 4. Contenido de azúcares de la pulpa de guanábana elaborada con *Lactobacillus casei*, durante 60 días.

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 el los azúcares de este producto lo que hace que este indicador en todos los tratamientos se vea inversamente proporcional.

3.4.2 pH.

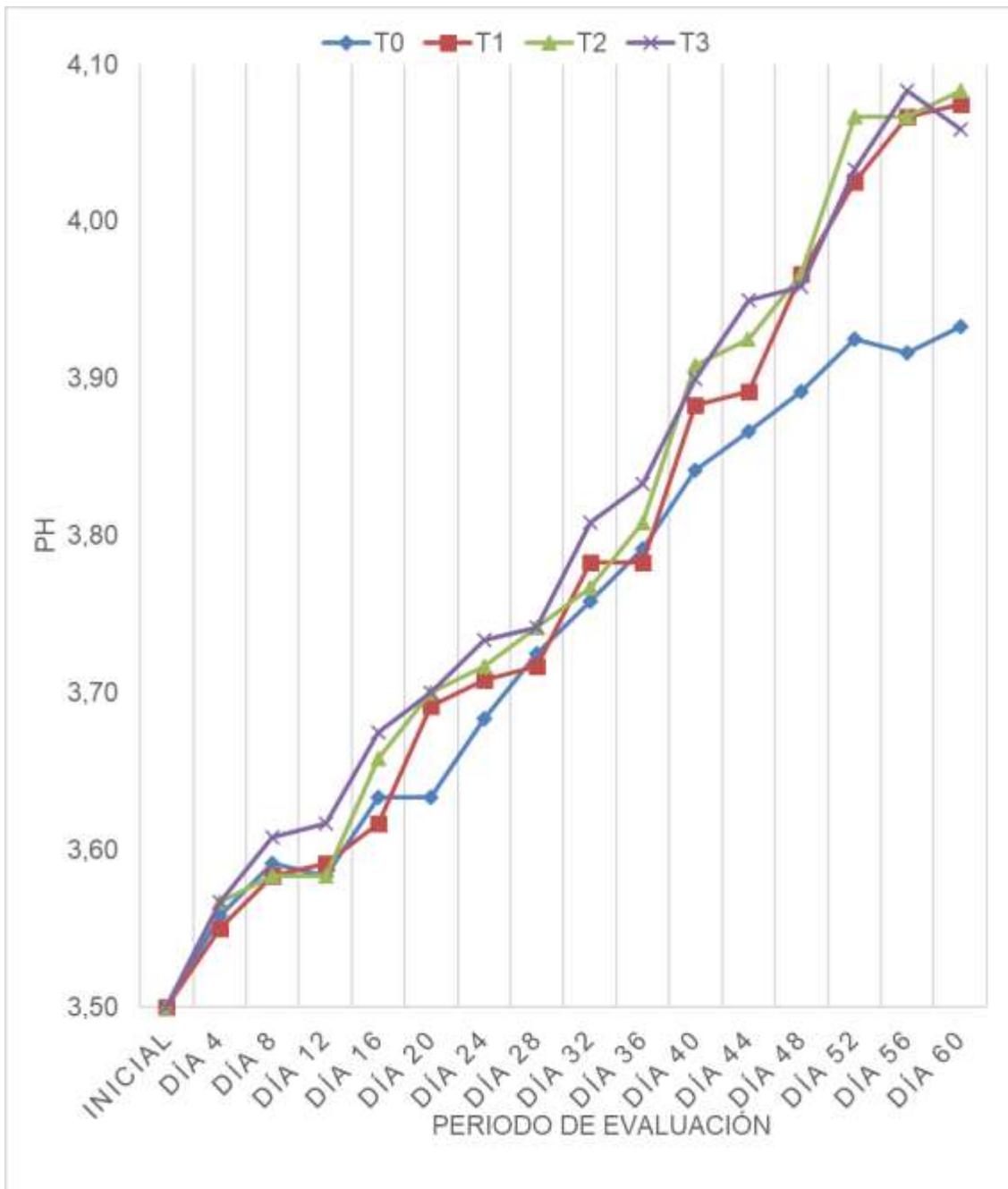


Gráfico 5. pH de la pulpa de guanábana elaborada con *Lactobacillus casei*, durante 60 días.

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.

3.4.3 Acidez.

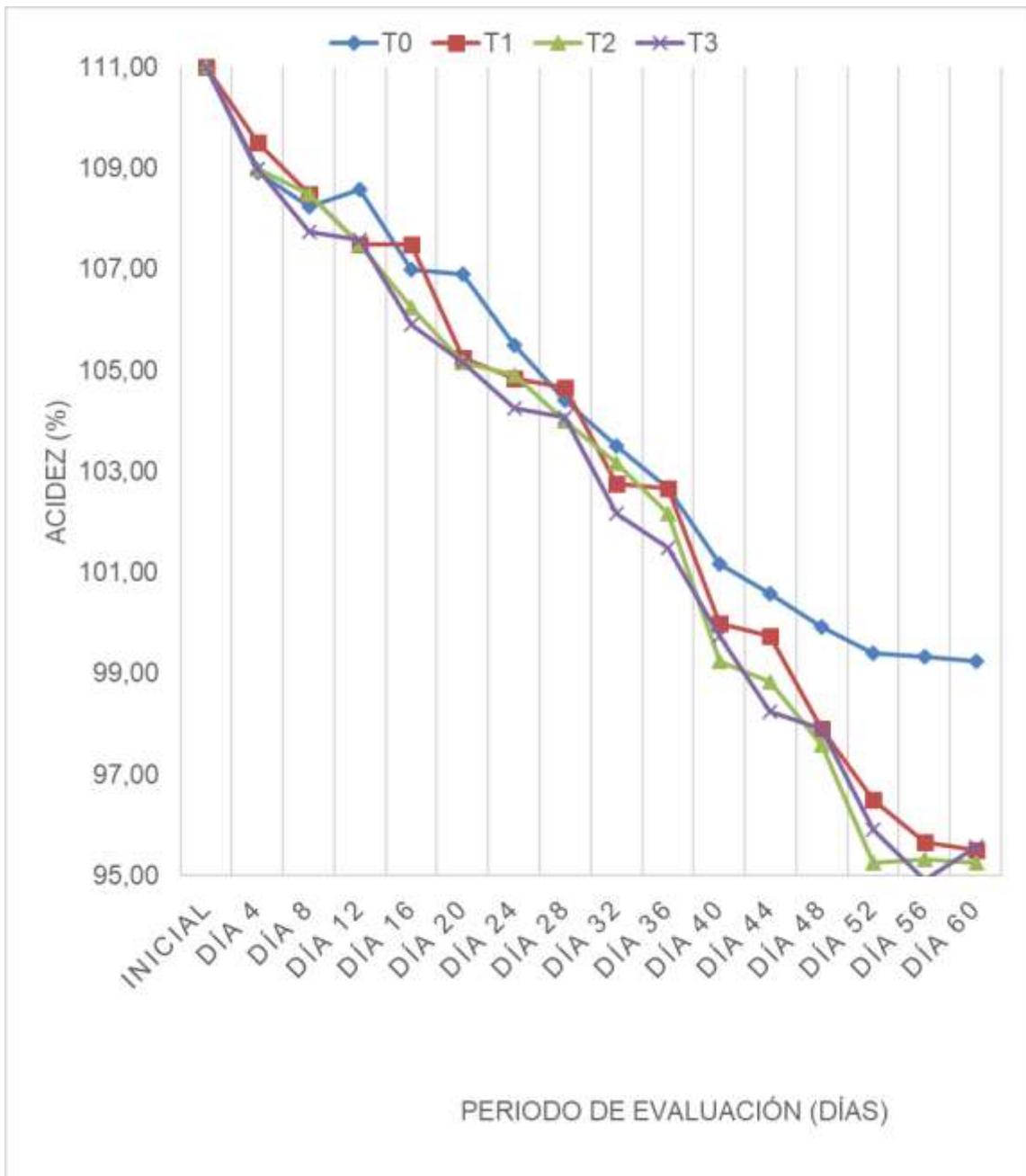


Gráfico 6. Acidez de la pulpa de guanábana elaborada con *Lactobacillus casei*, durante 60 días.

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.

3.4.5 Microbiológica.

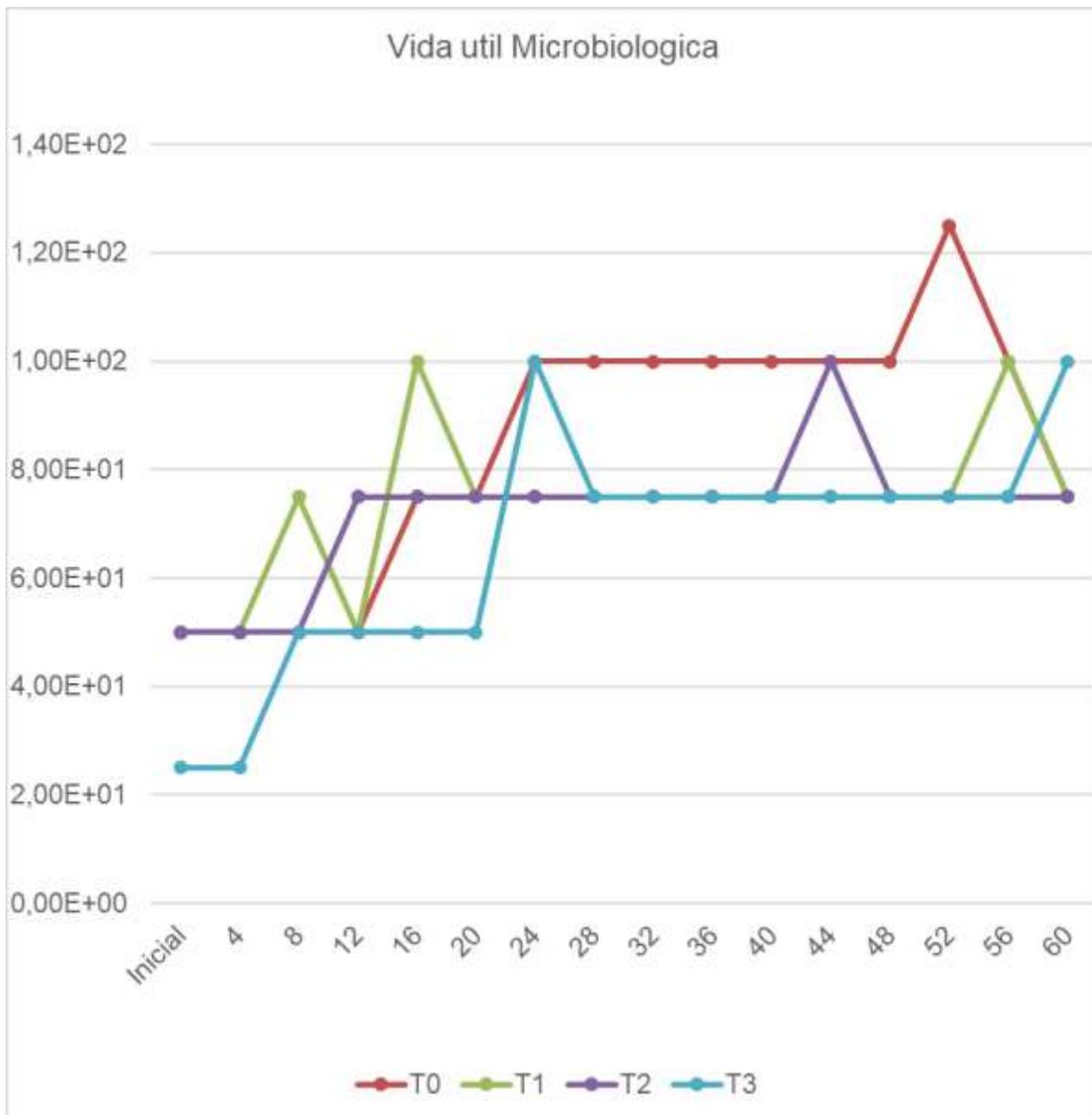


Gráfico 7. Vida útil Microbiológica de la pulpa de guanábana elaborada con *Lactobacillus casei*, durante 60 días.

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 9).

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.

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

Cuadro 11. VALORES DE LN DE CADA VALOR DE UFC/ML PARA CALCULAR.

Fuente: Los Autores

3.5 BENEFICIO COSTO

CUADRO 12. 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					
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			10896,58	23396,58	35896,58	48396,58
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

Fuente: Los Autores

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 12).

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.

4. CONCLUSIONES

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.

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.

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.

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.

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.

Por lo tanto se sugiere 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. Asimismo es importante utilizar hasta un nivel de 1,5 % *Lactobacillus casei*, ya que no causa efecto alguno en las características organolépticas.

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.

Finalmente, debido a que los diferentes niveles de *Lactobacillus casei*, no influyó en las características físico químicas de la pulpa de guanábana, se sugiere realizar investigaciones en futuros trabajos investigativos 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. BIBLIOGRAFÍA.

- 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
- ALVÍDREZ, A. GONZÁLEZ, B. Y JIMÉNEZ, Z. 2002. medigraphic. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/revsalpubnut/spn-2002/spn023g.pdf>
- 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).
- APOLINAR, J. 2010. Universidad Nacional de Colombia. Disponible en <http://www.bdigital.unal.edu.co/3138/1/293693.2010.pdf>
- 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
- AUPEC. 2016. Agencia Universitaria de Periodismo Científico. Disponible en: <https://aupec.univalle.edu.co/informes/2003/diciembre/guanabana.html>
- 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).
- 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.pdf
- CASTEJÓN, E. 2012. scpediatria. Disponible en: <http://www.scpediatria.cat/primaria/wp-content/uploads/PROBIOTICOS.pdf>
- CHANDLER, W. 1962. Frutales de hoja perenne. En W. Chandler. México: UTEH.
- 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.
- CKOTILAINEN, L. 2006. centro de referencia para lactobacillus. 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
- COLLINS, J. 1998. Selection of probiotic strains for human applications. En C. JK, Selection of probiotic strains for human applications (págs. 487-490).
- CRUZ, A. ANTUNES, A. SOUSA, A. Y FARIA, J. 2009. Ice-cream as a probiotic food carrier. . *Food Research International.*, 42-49.
- DESCALZI. 2013. cimpaltda. Disponible en: <http://www.cimpaltda.com/modulo/cultivos/l%20paracasei%20Lpc%2037%20LYO%2050%20DCU.pdf>
- DO ESPIRITU-SANTO. 2011. Influence of food matrices in probiotic viability- A review focusing in the fruity bases. *Food Science & technology*, 1-9.
- 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

- 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>
- 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>
- FRANCISCO, J, RODRÍGUEZ, M. 2010. Scielo. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v15n3/pla09310.pdf>
- GILL, C. 2006. Microbiology of frozen foods. En Handbook of Frozen Food Processing and Packaging. Boca Raton, Florida.: g. S. Da-Wen.
- 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.).
- HEKMAT, S. Y MCMAHON, D. 1992. Survival of Lactobacillus. Journal of Dairy Science., 75-76.
- HERNANDEZ, V. 2017. Preparation of a whey-bases probiotic product with Lactobacillus reuteri and Bifidobacterium bifidum. Journal Food Technology Biotechnological., vol 45, 27-31.
- 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/
- HOLZAPFEL, W. 1998. Overview of gut and probiotics. international Journal of Microbiology, 85 - 101.
- 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.
- INEN 2337, N. 2. (2008). Instituto de normalización ecuatoriana. Disponible en: <http://archive.org/stream/ec.n2.2337.2008#page/n7/mode/2up>
- INIAP. (2014). Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. disponible en: <http://tecnologia.iniap.gob.ec/index.php/explore-2/mfruti/rguanabana>
- 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.
- 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
- MARTÍNEZ, C. PELÁEZ, C. Y REQUENA, T. 2012. Disponible en.: http://www.sepyp.es/pdf/probioticos_y_Salud_humana_sepyp2012.pdf
- 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&lng=en
- MENDOZA, K. 2015. repositorio. Disponible en: http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/UCV/117/1/mendoza_vk.pdf
- MIPRO. 2011. Ministerio de industrias y productividad. Disponible en: <https://www.flacso.edu.ec/portal/pnTemp/PageMaster/f3aum4sgz8ls6rsximf6khej5eeefz.pdf>
- MOREU, M. 2012. pulevasalud. Disponible en: <http://www.pulevasalud.com/ps/revista/2011/09/alimentosaz.pdf>
- MORTON, J. 1987. Soursop: In: Fruits of Warm Climates. En J. F. Morton. Miami, Florida.: ISBN: 0-9610184-1-0.
- OLAGNERO, G. 2007. fmed. Disponible en: http://www.fmed.uba.ar/depto/nutrinormal/funcionales_fibra.pdf
- PABLO F. HERRERA, G. 2014. bibliotecadigital. Disponible en: https://bibliotecadigital.icesi.edu.co/biblioteca_digital/bitstream/10906/78872/1/T00179.pdf
- PEREIRA, F. 2011. Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with lactobacillus casei. Food Research International, 1276-1283.
- PROECUADOR. 2012. Proecuador. Disponible en: http://www.proecuador.gob.ec/wp-content/uploads/2013/11/PROEC_AS2012_FRUTAS.pdf

- REID, G. 2008. Probiotics and Prebiotics – Progress and Challenges. . International Dairy Journal., 969-975.
- 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).
- SAMANIEGO, L. Y SOSA DEL CASTILLO, M. 2014. monografias. Disponible en: <http://monografias.umcc.cu/monos/2001/mono11.pdf>
- 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.
- SERNA, J. 2012. unisabana. Elaboracion de Jugo de frutas con adiccion de baterias acido lacticas con potencial probioticos. Disponible en: <http://intellectum.unisabana.edu.co/handle/10818/3633>
- SERRA, B. FERRER Y DALMAU. 2001. inocua. Disponible en: <http://www.inocua.org/site/Archivos/investigaciones/Alim%20funcional%20probioticos.pdf>
- 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.
- SHEEHAN, V. 2006. Exposure, health information and flavour-masking strategies for improving the sensory quality of probiotic juice. En T. Luckow.
- 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.
- 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.
- UZCÁTEGUI. 2007. Estudio de factibilidad para la implementación de una empresa. En Uzcátegui.