



S.E.P. TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO

**INSTITUTO TECNOLÓGICO
de Tuxtepec**

**"DESARROLLO Y CARACTERIZACIÓN DE UNA BEBIDA
LÁCTEA CON PITAYA (*Stenocereus stellatus*)
PROBIÓTICO Y PROTEÍNA VEGETAL"**

TESIS

Para Obtener el título de:
MAESTRA EN CIENCIAS EN ALIMENTOS

PRESENTA:

I.I.A. MARIA FELIX SOSA REYES

DIRECTORA:

M.C. ERNESTINA PAZ GAMBOA

CO-DIRECTORA:

DRA. MARÍA DE LOS ANGELES VIVAR VERA



MCA-2018/02

TUXTEPEC, OAXACA, ENERO 2018

COMITÉ TUTORIAL

M.C. ERNESTINA PAZ GAMBOA
DRA. MARÍA DE LOS ANGELES VIVAR VERA
DRA. ARACELI PÉREZ SILVA
DR. JESÚS RODRIGUEZ MIRANDA



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTEPEC

“Desarrollo y caracterización de una bebida láctea con pitaya (*Stenocereus stellatus*), probiótico y proteína vegetal”.

TESIS

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN ALIMENTOS

PRESENTA:

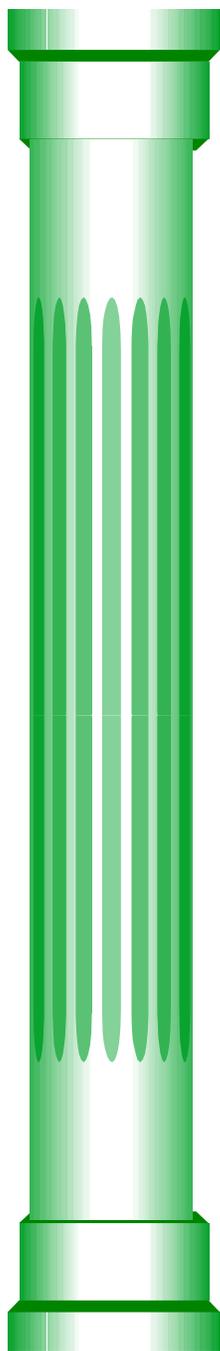
I.I.A Maria Felix Sosa Reyes

DIRECTOR:

M.C. Ernestina Paz Gamboa

CO-DIRECTOR INTERNO:

DRA. María de los Ángeles Vivar Vera





TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
Instituto Tecnológico de Tlaxtepec

SUBDIRECCIÓN ACADÉMICA
División de Estudios Profesionales

Procedimiento para la Titulación
Autorización de Presentación del Trabajo Profesional
Referencia a la Norma ISO 9001:2008 7.5.1

SUBDIRECCION ACADÉMICA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES
EXPEDIENTE: DEP-6/18

Tlaxtepec, Oaxaca **18/ENERO/2018**
OFICIO: No. 5082

L.I. MARIA FELIX SOSA REYES
EGRESADA DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS EN ALIMENTOS
CON NÚMERO DE CONTROL M15350038
PRESENTE.

POR MEDIO DE LA PRESENTE ME PERMITO COMUNICARLE QUE LA COMISIÓN REVISORA INTEGRADA POR LOS C.C. M.C. ERNESTINA PAZ GAMBOA, DRA. MARIA DE LOS ÁNGELES VIVAR VERA, DRA. ARACELI PÉREZ SILVA Y DR. JESÚS RODRÍGUEZ MIRANDA REVISÓ Y APROBÓ EN SU TOTALIDAD EL TRABAJO PROFESIONAL DENOMINADO "DESARROLLO Y CARACTERIZACIÓN DE UNA BEBIDA LÁCTEA CON PITAYA (*Stenocereus stellatus*), PROBIÓTICO Y PROTEÍNA VEGETAL" PRESENTADO POR USTED COMO PRODUCTO DE TESIS DEL LINEAMIENTO DE TITULACIÓN CORRESPONDIENTE, PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA EN CIENCIAS EN ALIMENTOS.

POR LO ANTERIOR Y DE ACUERDO A LOS LINEAMIENTOS INSTITUCIONALES, SE LE DA TRÁMITE LEGAL, PARA QUE PROCEDA A LA PRESENTACIÓN DEL TRABAJO PROFESIONAL.

ATENTAMENTE
"CIENCIA Y TÉCNICA PRESENTES AL FUTURO"

L.I. MARTHA MÓNICA HERNÁNDEZ CRUZ
JEFA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES.

C.c.p.-Coord. de titulación
MMHC/has



Av. Dr. Víctor Bravo C.P. 69250 Col. 5 de Mayo Tlaxtepec, Oaxaca
Teléfono: (291) 61 5 33 44 Ext. 123, Fax: (291) 61 5 19 80
e-mail: tit@itlaxtepec.mx



REGISTRO SOC
Código: ITLAX-AG-PD-080-02
Revisión: 1
Fecha de Autorización: 19/Junio/2014

**Desarrollo y caracterización de una bebida láctea
con pitaya (*Stenocereus stellatus*), probiótico y
proteína vegetal”.**

POR:

I.I.A. Maria Felix Sosa Reyes

**TESIS PROPUESTA AL
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTEPEC**

**COMO REQUERIMIENTO PARCIAL PARA OBTENER
EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS EN ALIMENTOS**

Enero, 2018

DEDICATORIA

A **Dios** por darme fe y fuerza de voluntad y por estar conmigo en cada momento para terminar y obtener un grado más.

A mis padres **Loreto Reyes Soriano e Ismael Sosa Martínez** porque me han forjado como la persona que soy actualmente, gracias por su cariño, apoyo incondicional y estar a mi lado cuando más los he necesitado, los amo.

A mis hermanos **Yadira, Mariana, Juan, Ulises**, gracias por sus muestras de cariño durante este tiempo.

A mi sobrina **Taiyari** durante este tiempo has iluminado mi vida, te amo pequeña.

A mi **Tía Anita**, tu mi segunda madre gracias por cuidarme, darme consejos a lo largo de mi existencia, te quiero.

A mi **Tío Vicente Amancio**, gracias por darme siempre ánimos.

A mi familia (**Tíos, primos**) que es lo más valioso que dios me ha dado que de una u otra manera no estamos juntos pero siempre me dieron animo los quiero.

Al **M.C Nereo Martínez Andrade**, gracias por ser un excelente maestro y encaminarme por el camino profesional correcto y siempre aconsejarme hasta el momento y formar parte de mis metas.

¡GRACIAS!

AGRADECIMIENTOS

Al “**Señor de la Salud**” y “**Virgen de Guadalupe**” gracias por permitir vivir y llegar a este momento, por darme inteligencia salud y fortaleza en este tiempo para terminar una meta muy anhelada en mi vida.

Al **Consejo de Ciencia y tecnología del Estado de Puebla (CONCYTEP)**, por haberme otorgado la beca de Incorporación de mujeres indígenas al posgrado Nacional Regional CONACYT, para realizar mis estudios de posgrado.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)**, por la beca otorgada para la realización de mis estudios de posgrado.

Al **Instituto Tecnológico de Tuxtepec**, por permitirme realizar en sus aulas y laboratorios mis estudios de Posgrado. Así mismo por haber contribuido substancialmente en mí desarrollo científico y personal.

A mi asesora **M.C. Ernestina Paz Gamboa** por el asesoramiento, tiempo dedicado en la revisión de resultados, redacción y presentación de la tesis. Infinitamente gracias.

A mi comité revisor, **Dra. María de los Ángeles Vivar Vera, Dra Aracely Pérez Silva y Dr. Jesús Rodríguez Miranda** por su aportación en el desarrollo de este proyecto. Y a todos los profesores de la Maestría en Ciencias en Alimentos. Gracias por contribuir en mi formación académica y profesional.

A la Ing. **Ana María Juárez**, por haber creído en mí.

A los integrantes del laboratorio DNP y **amigos**, gracias por su amistad y por su ayuda desinteresada durante el desarrollo de mi tesis.

¡MUCHAS GRACIAS!

RESUMEN

Sosa Reyes, Maria Felix. Maestría en Ciencias en Alimentos. Instituto Tecnológico de Tuxtepec. **“Desarrollo y caracterización de una bebida láctea con pitaya (*Stenocereus stellatus*), probiótico y proteína vegetal”**. Director(a) M.C. Ernestina Paz Gamboa, Co-Directora (ra). Dra. María de los Ángeles Vivar Vera.

La tendencia en bebidas probióticas se basa en sabores no convencionales y enriquecidos en su composición. En el Centro y Sur de México se produce pitaya (*Stenocereus stellatus*), una cactácea cuya fruta es rica en antioxidantes pero altamente perecedera por su elevado contenido de humedad. Considerando que los probióticos benefician la salud, que aislados proteicos de frijol ayocote (*Phaseolus coccineus* L) poseen proteínas que son utilizadas en el control del síndrome metabólico y en respuesta a la necesidad de productores del Municipio de Totoltepec de Guerrero, Puebla, para darle valor agregado a la pitaya producida, se realizó este proyecto cuyo objetivo fue desarrollar y caracterizar una bebida láctea con jugo de pitaya (*Stenocereus stellatus*) adicionada con un probiótico y proteína vegetal. Se caracterizó la pulpa de pitaya y el jugo obtenido por tecnología convencional (JC) y por tecnología ciclónica de batido (JCB). La bebida fue elaborada utilizando jugo de pitaya pasteurizado, endulzado con stevia-sucralosa (5:1p/p), leche descremada UHT de marca comercial, *Lactobacillus plantarum* 0.25 y 0.5% ($\geq 8 \log$ UFC/mL) y proteína vegetal (0, 0.5, 1.5 y 2.5 g/L), tiempo de almacenamiento 21 d a 4 °C. La estrategia experimental fue en tres etapas (I selección de concentración de probiótico, II selección del tratamiento leche-jugo de mayor viabilidad y III enriquecimiento de la bebida con proteína). Las variables de respuesta fueron viabilidad de *L. plantarum*, pH, acidez titulable y sinéresis. Se obtuvo pulpa de pitaya a 10.5 °Bx, rendimiento de 81.06 %, pH 4.2, 8.38 % proteína y 87.74 % humedad. Se seleccionó 0.25% de *L. plantarum* en agua/jugo de pitaya por la cuenta viable $\geq 8 \log$ UFC/mL a los 21 d. Se obtuvo una viabilidad superior al 90 % en tratamientos leche/jugo de pitaya (1:2 y 1:4 v/v). La adición de proteína vegetal no afectó negativamente la viabilidad de *L. plantarum*, manteniendo una cuenta viable final de 7.5 - 8.8 log UFC/mL. Hubo un efecto significativo del tiempo

en relación a la acidez titulable, aumentando en todos los tratamientos a los 21 d. La bebida probiótica con leche-jugo (1:4 v/v), 1.5 g/L proteína y endulzada con estevia-sucralosa (5:1 p/p) fue la más aceptada por los consumidores.

ABSTRACT

Sosa Reyes, Maria Felix. Maestría en Ciencias en Alimentos. Instituto Tecnológico de Tuxtepec. “**Development and characterization of a milk drink with pitaya (*Stenocereus stellatus*), probiotic and vegetable protein**”. Director(a) M.C. Ernestina Paz Gamboa, Co-Director (ra). Dra. María de los Ángeles Vivar Vera.

The trend in probiotic beverages is based on unconventional flavors and enriched in their composition. In the Center and South of Mexico pitaya (*Stenocereus stellatus*) is produced, a cactus whose fruit is rich in antioxidants but highly perishable due to its high moisture content. Considering that probiotics benefit health, protein isolates of ayocote beans (*Phaseolus coccineus L*) possess proteins that are used in the control of the metabolic syndrome and in response to the need of producers in the Municipality of Totoltepec de Guerrero, Puebla, to give them value added to the pitaya produced, this project was carried out whose objective was to develop and characterize a milk drink with pitaya juice (*Stenocereus stellatus*) added with a probiotic and vegetable protein. The pitaya pulp and the juice obtained by conventional technology (JC) and cyclonic beating technology (JCB) were characterized. The drink was made using pasteurized pitaya juice, sweetened with stevia-sucralose (5: 1p / p), commercially-branded UHT skimmed milk, *Lactobacillus plantarum* 0.25 and 0.5% ($\geq 8 \log \text{CFU} / \text{mL}$. [3]). And vegetable protein (0, 0.5, 1.5 and 2.5 g / L), storage time 21 gives 4 °C. The experimental strategy was in three stages (I selection of probiotic concentration, II selection of milk-juice treatment with greater viability and III enrichment of the drink with protein). The response variables were viability of *L. plantarum*, pH, titratable acidity and syneresis. Pitaya pulp was obtained at 10.5 ° Bx, yield of 81.06%, pH 4.2, 8.38% protein and 87.74% humidity. 0.25% of *L. plantarum* in water / pitaya juice was selected for the viable count $\geq 8 \log \text{CFU} / \text{mL}$ at 21 d. A viability higher than 90% was obtained in milk / pitaya juice treatments (1: 2 and 1: 4 v / v). The addition of vegetable protein did not negatively affect the viability of *L. plantarum*, maintaining a final viable count of 7.5 - 8.8 log CFU / mL. There was a significant effect of time in relation to titratable acidity, increasing in all treatments at 21 d. The probiotic drink with milk-juice (1: 4 v / v), 1.5

g / L protein and sweetened with stevia-sucralose (5: 1 p / p) was the most accepted by consumers.

ÍNDICE

RESUMEN	i
ABSTRACT.....	iii
ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	x
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	3
2.1 Alimentos funcionales	3
2.1.1 Alimentos probióticos	4
2.2 Bebidas funcionales	5
2.2.1 Bebida lácteas fermentadas.....	6
2.3 Edulcorante	7
2.3.1 Clasificación de los edulcorantes	8
2.3.2 Estevia	8
2.3.3 Composición de la Estevia	9
2.3.4 Beneficios de la estevia para la salud humana	10
2.3.5 Sucralosa	10
2.4 Industrialización de Frutas	11
2.4.1 Jugo de frutas	11
2.4.2 Néctar de frutas.....	12
2.5 Probióticos	12
2.5.1 Géneros de bacterias utilizados como probióticos	13
2.5.2 Mecanismos de acción de los probióticos	14
2.5.3 Cepas probióticas	16
2.5.4 Supervivencia y viabilidad de los probióticos en los alimentos	16
2.6 <i>Lactobacillus</i>	17
2.6.1 <i>Lactobacillus plantarum</i>	17
2.7 Cactáceas	18
2.7.1 Pitaya	19
2.7.2 Principales estados productores de pitaya en México	19
2.7.3 Localización de zonas productoras	20
2.7.4 Distribución de la pitaya en la Mixteca	20
2.7.5 Usos de la pitaya.....	21
2.7.6 <i>Stenocereus</i>	21

2.7.7 Clasificación botánica de la pitaya	22
2.7.8 <i>Stenocereus stellatus</i>	22
2.7.9 Contenido químico de la pitaya (<i>Stenocereus stellatus</i>)	23
2.8 Proteína vegetal	23
2.8.1 Proteínas obtenidas a partir de leguminosas	24
2.8.2 Composición Taxonómica del Frijol ayocote	24
2.8.3 Frijol ayocote (<i>Phaseolus coccineus L.</i>)	25
2.8.4 Contenido nutricional del frijol	26
3. ANTECEDENTES	27
4. JUSTIFICACIÓN	28
5. OBJETIVOS	29
a. Objetivo General	29
b. Objetivos Específicos	29
6. MATERIALES Y MÉTODOS	30
6.1 Materiales	30
6.2 Obtención y conservación de la pulpa de pitaya	30
6.2.1 Recolección de la materia prima	31
6.2.2 Separación manual de las espinas	31
6.2.3 Selección de frutos	31
6.2.4 Lavado del fruto	32
6.2.5 Obtención de la pulpa de pitaya	32
6.2.6 Empacado al vacío	33
6.2.7 Escaldado	33
6.3 Obtención del rendimiento de la pulpa de pitaya	35
6.4 Análisis fisicoquímico	35
6.5 Análisis químico proximal	35
6.6 Proceso de obtención del Jugo de pitaya (<i>S. stellatus</i>) utilizando una tecnología convencional.	36
6.7 Proceso de obtención del batido de pitaya (<i>S. stellatus</i>) utilizando una tecnología ciclónica.	36
6.8 Proceso de obtención del jugo endulzado pasteurizado.	36
6.9 Preparación del inóculo <i>L. plantarum</i>	37
6.10 Activación del <i>L. plantarum</i> en medio MRS	37
6.11 Propagación del <i>L. plantarum</i>	38
6.12 Obtención del paquete celular	39

6.13	Elaboración de la bebida de Pitaya (<i>S. stellatus</i>) con una relación agua/jugo pitaya	39
6.14	Elaboración de una bebida láctea (<i>S. stellatus</i>) con una relación leche/jugo de pitaya	40
6.15	Elaboración de una bebida láctea probiótica de pitaya enriquecida con proteína vegetal	40
6.16	Estrategia experimental	42
6.17	Variables de respuesta evaluadas en las bebidas agua-jugo de pitaya, leche- Jugo de pitaya y leche-jugo de pitaya enriquecida con proteína vegetal durante 21 días de almacenamiento	45
6.17.1	Determinación de pH	45
6.17.2	Determinación de acidez titulable (% de ácido láctico)	45
6.17.3	Determinación del % de sinéresis	45
6.17.4	Evaluación de la viabilidad del microorganismo probiótico en las bebidas	46
6.18	Prueba de aceptabilidad	47
6.19	Paquete estadístico.....	47
7.	RESULTADOS	48
7.1	Análisis fisicoquímico de la Pulpa de pitaya.....	48
7.1.1	Rendimiento de la fruta fresca de pitaya (<i>Stenocereus stellatus</i>).	48
7.1.2.	Caracterización fisicoquímica de la pulpa fresca de pitaya	49
7.1.3	Análisis proximal del jugo de pitaya y jugo pasteurizado	51
7.2	Evaluación de la viabilidad y cambios de pH en Bebidas agua-jugo de pitaya y adición de dos concentraciones de <i>L. plantarum</i>	53
7.2.1	Viabilidad y cambios de pH en bebida agua-jugo de pitaya a concentración del 0.5% de <i>L. plantarum</i>	53
7.2.2	Viabilidad y cambios de pH en bebida agua-jugo de pitaya a concentración del 0.2 5% de <i>L. plantarum</i>	55
7.3	Evaluación de la viabilidad y cambios de pH en Bebidas con leche-jugo de pitaya y adición de <i>L.plantarum</i> a una sola concentración.....	57
7.3.1	Viabilidad y cambios de pH en bebida láctea leche-jugo de pitaya	57
7.3.2.	Porcentaje de ácido láctico de la bebida láctea leche-jugo de pitaya.	59
7.4.	Evaluación de la viabilidad y cambios de pH en bebidas lácteas con leche-jugo de pitaya a diferentes proporciones enriquecida con con proteína vegetal.....	60
7.4.1.	Viabilidad y cambios de pH de la bebida láctea leche-jugo de pitaya en una relación 1:2 enriquecida con proteína vegetal	60
7.4.2.	Porcentaje de ácido láctico de la bebida láctea leche-jugo de pitaya relación 1:2 enriquecida con proteína vegetal	62

7.4.3. Porcentaje de sinéresis de la bebida láctea 1:2 leche-jugo de pitaya enriquecida con proteína vegetal.....	63
7.4.4. Viabilidad y cambios de pH de la bebida láctea 1:4 leche-jugo de pitaya enriquecida con proteína vegetal.....	65
7.4.5 Porcentaje de ácido láctico de la bebida láctea 1:4 leche-jugo de pitaya enriquecida con proteína vegetal.....	67
7.4.6 Porcentaje de sinéresis de la bebida láctea 1:4 relación leche-jugo de pitaya enriquecida con proteína vegetal	68
7.5 Prueba de aceptación dirigida al consumidor.....	70
8. CONCLUSIONES	72
9. RECOMENDACIONES	74
10. BIBLIOGRAFÍA	75
11. ANEXOS	85
Anexo 1. Formato para la prueba de aceptación dirigida al consumidor.....	85
Anexo 2. Medio de cultivo Man, Ragosa y Sharp (MRS)	86
Anexo 3. Solución Reguladora Buffer de Fosfatos de Sorensen	86

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Aplicación de las bacterias probióticas en bebidas lácteas fermentadas..	7
Tabla 2. Índice de dulzor.de los edulcorantes no caloricos	7
Tabla 3. Clasificación de los edulcorantes.....	8
Tabla 4. Composición de glucósido en peso seco de las hojas de la estevia	9
Tabla 5. Microorganismos utilizados como probióticos.....	14
Tabla 6. Principales mecanismos de acción propuestos de los probióticos.....	15
Tabla 7. Clasificación taxonómica del genero <i>Stenocereus</i>	22
Tabla 8. Composición química de la pitaya <i>Stenocereus stellatus</i> coloración morada.....	23
Tabla 9. Composición químico proximal del frijol ayocote (<i>Phaseolus coccineus</i> L.).....	26
Tabla 10. Componentes fisicoquímicos utilizados en pulpa de pitaya fresca.	35
Tabla 11. Componentes del AQP evaluados en la pulpa de pitaya fresca, jugo de pitaya, batido de pitaya, jugo endulzado pasteurizado.....	36
Tabla 12. Bebida de pitaya agua-jugo de pitaya (Etapa I).....	43
Tabla 13. Bebida lactea leche-jugo de de pitaya (Etapa II).....	44
Tabla 14. Bebida lactea leche/jugo de pitaya enriquecida con proteina vegetal (Etapa III).....	44
Tabla 15. Rendimiento de las partes de la fruta fresca de pitaya (<i>Stenocereus estellatus</i>) con un estado de madurez de 10.5 °Bx.	48
Tabla 16. Análisis proximal y fisicoquímico de la pulpa fresca de pitaya (<i>Stenocereus stellatus</i>) color purpura.	49
Tabla 17. Resultados comparativos del análisis proximal del Jugo de pitaya (<i>S. stellatus</i>) obtenido utilizando dos tecnologías de extracción: convencional y ciclónica de batido (JC, JCB) y jugo endulzado pasteurizado.....	51
Tabla 18. Acidez titulable (% de ácido láctico) de la bebida láctea leche/néctar de pitaya durante la viabilidad de <i>L. plantarum</i> con una concentración de 0.25% durante 21 días.	59
Tabla 19. Acidez titulable (% de ácido láctico) de la bebida láctea leche/jugo de pitaya 1:2 v/v durante la viabilidad de <i>L. plantarum</i> con una concentración del 0.25% y proteína vegetal durante periodo de almacenamiento de 21 días a 4°C.....	62
Tabla 20. Acidez titulable (% de ácido láctico) de la bebida láctea leche/jugo de pitaya 1:4 v/v durante la viabilidad de <i>L. plantarum</i> con una concentración del 0.25% y proteína vegetal durante periodo de almacenamiento de 21 días a 4°C.....	67
Tabla 21. Evaluación sensorial de una bebida láctea 1:2 relación leche/jugo a concentración del 0.25% de <i>Lactobacillus plantarum</i>	70
Tabla 22. Evaluación sensorial de una bebida láctea 1:4 relación leche/jugo de pitaya con proteína vegetal a concentración de 0.25% de <i>Lactobacillus plantarum</i>	71

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Clasificación de las bebidas funcionales.	6
Figura 2. Estructura química de la estevia	9
Figura 3. Estructura química de la sucralosa.....	10
Figura 4. Distribución geográfica de la pitaya en la Mixteca (Rojas–Aréchiga et al., 2001).....	20
Figura 5. Diagrama de bloques para la obtención y conservación de la pulpa de pitaya.....	30
Figura 6. Recolección de la materia prima.	31
Figura 7. Separación manual de espinas.	31
Figura 8. Selección de frutos.	32
Figura 9. Lavado del fruto.....	32
Figura 10. Pulpa de pitaya sin cáscara.....	33
Figura 11. Bolsas con pulpa antes y después del empacado al vacío.	33
Figura 12. Autoclave utilizando para el escaldado de la pulpa de pitaya.	34
Figura 13. Pulpa de pitaya congelada.	34
Figura 14. Elaboración del jugo endulzado pasteurizado.	37
Figura 15. Activación del <i>L. plantarum</i> en medio MRS.....	38
Figura 16. Propagación del <i>L. plantarum</i>	38
Figura 17. Obtención del paquete celular.....	39
Figura 18. Diagrama del desarrollo de una bebida láctea con jugo de pitaya y proteína vegetal.	41
Figura 19. Diagrama de recuento en placa de la bacteria probiótica en la bebida láctea.....	46
Figura 20. Cuenta viable (log UFC/mL) y cambios de pH del <i>L. plantarum</i> a concentración de 0.5% en una bebida de pitaya durante 21 días de almacenamiento a 4°C. a) Con estevia y sucralosa, b) Sin estevia y sucralosa.	53
Figura 21. Cuenta viable y cambios de pH del <i>L. plantarum</i> a concentración del 0.25% en una bebida de pitaya durante 21 días de almacenamiento a 4°C. a) Con estevia /sucralosa, b) Sin estevia /sucralosa.	55
Figura 22. Cuenta viable y cambios de pH en una bebida láctea de pitaya elaborada con <i>L. plantarum</i> a concentración de 0.25% durante 21 días de almacenamiento a 4°C. a) Con estevia /sucralosa, b) Sin estevia /sucralosa.	57
Figura 23. Cuenta viable y cambios de pH en una bebida láctea de pitaya elaborada con <i>L. plantarum</i> a concentración de 0.25% y proteína vegetal en una relación 1:2 durante 21 días de almacenamiento a 4°C. a) Con estevia /sucralosa, b) Sin estevia /sucralosa.	60
Figura 24. Cambios de sinéresis (%) en una bebida láctea de pitaya elaborada con <i>L. plantarum</i> a concentración de 0.25% y proteína vegetal en una 1:2 relación durante 21 días de almacenamiento a 4°C. a) Con estevia /sucralosa, b) Sin estevia /sucralosa.	63
Figura 25. Cuenta viable y cambios de pH en una bebida láctea de pitaya elaborada con <i>L. plantarum</i> a concentración de 0.25% y proteína vegetal en una 1:4 relación durante 21 días de almacenamiento a 4°C. a) Con estevia /sucralosa, b) Sin estevia /sucralosa.	65

Figura 26. Cambios de sinéresis (%) en una bebida láctea de pitaya elaborada con *L. plantarum* a concentración de 0.25% y proteína vegetal en una relación 1:4 (leche/jugo) durante 21 días de almacenamiento a 4°C. a) Con estevia /sucralosa, b) Sin estevia/sucralosa 68

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

Hoy en día los alimentos no solamente pretenden satisfacer el hambre y proporcionar los nutrientes necesarios para el ser humano, si no también prevenir enfermedades que se relacionen con el bienestar físico y mental del consumidor, en este caso el desarrollo de alimentos funcionales podría proporcionar este beneficio. (Siró et al., 2008). Para el desarrollo de alimentos funcionales se han utilizado probióticos los cuales son microorganismos utilizados en el desarrollo y fabricación de alimentos funcionales, son definidos como microorganismos vivos cuando se administran en pequeñas cantidades de 10^9 células por ingesta diaria, confieren beneficios para la salud (Elizaquivel et al., 2011) o también suplementos microbianos vivos que benefician al huésped mejorando su equilibrio microbiano intestinal (Pereira et al., 2011).

En el mercado actualmente se comercializan bebidas lácteas probióticas a base de jugo de frutas las cuales son inoculadas con probióticos del genero *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* y son caracterizadas por ser resistentes al acidez del estómago, por otro lado también son enriquecidas naturalmente por antioxidantes que contiene las frutas (Özer et al., 2010).

Las leches fermentadas o bebidas lácteas fermentadas son el resultado de la acidificación de la leche a través de la actividad metabólica de las bacterias ácido lácticas, las cuales causan efectos fisicoquímicos, sensoriales y microbiológicos en productos lácteos fermentados. En los últimos años, las bacterias probióticas se han añadido a la leche fermentada para satisfacer la demanda de los consumidores (Casarotti et al., 2014).

Lactobacillus son bacterias ácido lácticas que se caracterizan por los diferentes usos a nivel industrial y en ocasiones, utilizadas como fermentadores de alimentos cárnicos, lácteos y vegetales, además como el uso de biopreservación para incrementar la vida útil de los productos o como potencial probiótico industrial (Andrea et al., 2010).

Lactobacillus plantarum pertenece al grupo de las bacterias ácido lácticas que tienen un metabolismo heterofermentativo (Pereira et al., 2013).

El pitayo (*Stenocereus stellatus*) es un cactus columnar muy resistente a la sequía, produciendo frutos comestibles conocidos localmente como pitayas, los cuales representan una alternativa económica valiosa para los campesinos regiones semiáridas de México. La pulpa de este fruto es un alimento fresco y dulce, cuya importancia nutricional proviene de su alto contenido de azúcar así como de las cantidades considerables de vitamina B, C, E (Beltrán-Orozco et al., 2009).

El frijol ayocote (*Phaseolus coccineus L.*) es muy amplio, tiene un registro de 52 especies de las cuales 40 son originarias de México y no todas están caracterizadas desde el punto de vista nutracéutico, es una especie que puede contener hasta un 20% de proteínas el cual la convierte en una fuente rica de péptidos biactivos, por lo cual se usan en la prevención o tratamiento de enfermedades crónico degenerativas tales como la diabetes hipertensión y cáncer (Teniente-Martínez et al., 2016).

Durante la realización de esta investigación, se desarrolló y caracterizo una bebida láctea con néctar pitaya (*Stenocereus stellatus*) adicionada con un probiótico y proteína vegetal.

MARCO TEÓRICO

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Alimentos funcionales

El término de alimentos funcionales se introdujo en Japón en el año de 1980 fue el primer país en el que se declara la aprobación de reglamentación y se especifica el proceso para alimentos funcionales (Bevilacqua et al., 2013).

Los alimentos funcionales se pueden definir como aquellos que contienen componentes biológicamente activos reduciendo el riesgo de que el consumidor pueda sufrir enfermedades (Santillan et al., 2014). Así como también son aquellos alimentos o componentes de alimentos que son reconocidos por la investigación científica que tienen beneficios fisiológicos más allá de la nutrición básica, se les pueden nombrar como alimentos nutraceuticos y también dentro los alimentos funcionales se pueden incluir alimentos modificados genéticamente (Barbaros et al., 2009). La mayoría de los alimentos funcionales con microorganismos probióticos pertenecen a los lácteos, por eso se hace necesario explorar diferentes sustratos a los que se les pueda inocular estos microorganismos y así tener acceso a los beneficios que proporcionan (Marín et al., 2009)

Entre la clasificación de alimentos funcionales podemos encontrar los basados en leche que representan aproximadamente el 43% del mercado, de los cuales son productos lácteos fermentados, se dividen en tres grupos a continuación se mencionaran (Özer et al., 2010).

1. Productos lácteos básicos: Esta categoría incluye productos comunes como yogur, mantequilla helado etc.
2. Productos de valor añadido: Dentro esta clasificación existe aquellos productos bajos en lactosa o sin lactosa, formulas hipoalergenic con proteínas hidrolizadas para lactantes hipersensibles a la leche, leches enriquecidas con Ca y vitaminas.
3. Alimentos lácteos funcionales: Este tipo de alimentos son enriquecidos con componentes funcionales que proceden de fuentes lácteas y no lácteas.

2.1.1 Alimentos probióticos

Alimento probiótico se define como un producto alimenticio que contiene microorganismos probióticos viables en cantidades suficientes. Algunos de los principales beneficios para la salud relacionados con los probióticos son la prevención y el tratamiento de la diarrea, la actividad antimicrobiana, el alivio de los síntomas causados por la intolerancia a la lactosa, actividades anti-carcinógenas y antimutagénicas y estimulación del sistema inmunológico (Aboufazli et al., 2016).

La matriz alimenticia por cultivos probióticos consiste en otra forma de probióticación que puede contribuir a beneficios tecnológicos o de salud adicional. Las bacterias probióticas producen metabolitos durante la fermentación que son los responsables de la mejora de los aspectos funcionales de los alimentos entre los más mencionados son las vitaminas del grupo B como los folatos (Espirito-Santo et al., 2015).

Los alimentos probióticos comerciales que podemos encontrar en el mercado son los productos lácteos, se les caracterizan como alimentos probióticos porque contienen un grado de acidez el cual asegura la supervivencia de los probióticos durante el proceso de fermentación y almacenamiento. Los probióticos que se incluyen en la formulación de un producto lácteo fermentado no modifican los atributos sensoriales particulares del mismo (Mani-López et al., 2014).

Un alimento que contiene especies probióticas es capaz de proteger al ser humano de diferentes maneras: 1) compitiendo por espacio físico y nutrientes; 2) produciendo sustancias antibióticas (bacteriosinas) inactivando patógenos; 3) estimulando el sistema inmune del intestino así como también contribuyendo al contenido de acidificación del colon, lo cual evita el crecimiento de patógenos (González et al., 2009).

Los medios en el que se pueden adicionar las bacterias probióticas y utilizar como vehículos para el consumo de estos microorganismos beneficiosos son los

productos lácteos como yogurt, leches y derivados que se encuentran presentes en la industria de los alimentos (González et al., 2009).

La selección de un producto base adecuado para la administración de probióticos es un paso clave en el desarrollo de alimentos probióticos. Los productos lácteos son los vehículos más usuales para suministrar probióticos, siendo el yogur y leche fermentada los más comunes. También deben considerarse las diferencias en el metabolismo de las cepas probióticas, ya que afecta marcadamente las características de los productos probióticos. El metabolismo de las bacterias probióticas, y particularmente la vía de la heterofermentación, puede resultar en la producción de compuestos y afectar negativamente las características sensoriales del producto, el denominado sabor a probióticos (Oliveira et al., 2017).

2.2 Bebidas funcionales

La mayoría de alimentos funcionales con microorganismos probióticos pertenecen a lácteos, por eso se hace necesario explorar diferentes sustratos a los que se les puedan inocular estos microorganismos y tener acceso a los beneficios que proporcionan (Marín et al., 2009).

Los jugos de frutas, bebidas y leches fortificadas con vitaminas, minerales y fibra son las más consumidas entre los alimentos funcionales (Sampedro et al., 2006). También se pueden llamar bebidas no alcohólicas, fortificadas con vitaminas y otros ingredientes funcionales (Siro et al., 2008).

Dentro de las bebidas se puede encontrar una importante clasificación como se puede mostrar en la **figura 1** (Kandilys et al., 2016)

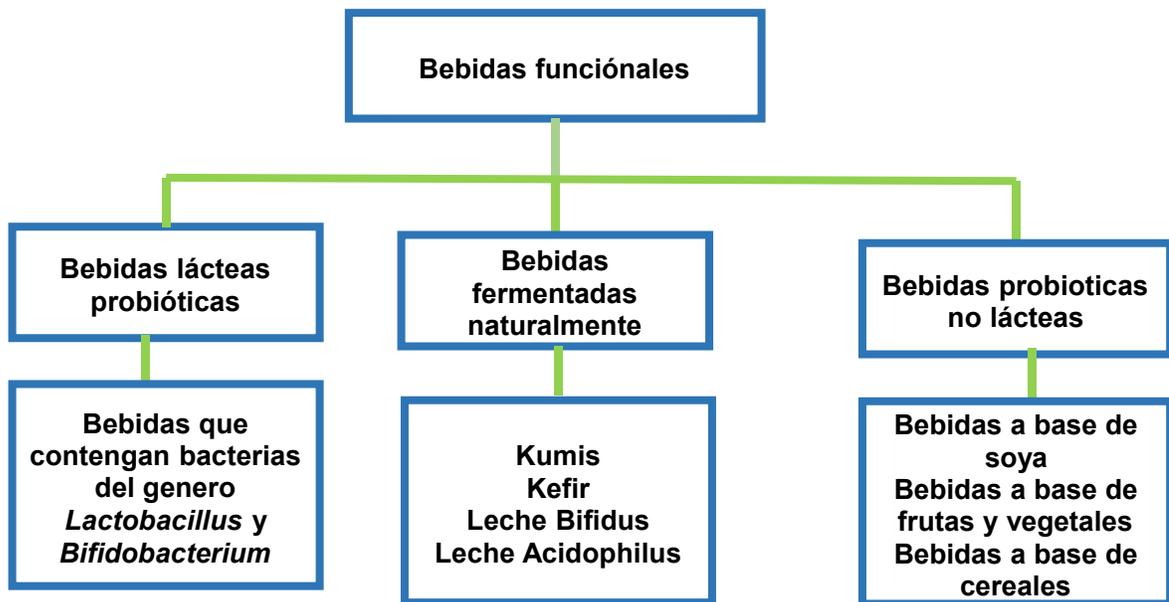


Figura 1. Clasificación de las bebidas funcionales.

2.2.1 Bebida lácteas fermentadas

La leche fermentada se define como un producto lácteo que durante el proceso de fermentación ha cambiado sus aspectos nutricionales así como sus aspectos físicos y químicos. Este proceso es el resultado de la actividad de varios microorganismos que utiliza la leche como sustrato, así como diferentes tipos de lácteos, como la leche entera, leche descremada, parcialmente desnatada fortificada o modificada (Pereira et al., 2013).

Para cada matriz de alimento como en este caso, las bebidas lácteas se utiliza un límite inferior de 109 unidades formadoras de colonias (UFC) por dosis, también puede diferenciar dependiendo de la cepa utilizada (Maia et al., 2013). En la tabla 1 se muestran ejemplos de bebidas lácteas fermentadas.

Tabla 1. Aplicación de las bacterias probióticas en bebidas lácteas fermentadas.

Bebida	Bacteria probiótica	Sustratos probióticos
Bebida de leche de cabra basada en suero.	<i>S. thermophilus</i> TA-40, <i>B. lactis</i> Bb-12 y <i>L. rhamnosus</i> L.-32.	Pulpas de guayaba y guanábana.
Bebidas lácteas	<i>S. thermophilus</i> , <i>L. acidophilus</i> y <i>L. delbrueckii</i> .	Sabor a fresa.
Leche fermentada	<i>L. acidophilus</i> LA5, <i>L. plantarum</i> y <i>B. lactis</i> Bb12	Jugo de zanahoria.

Fuente (Bakr, 2016).

2.3 Edulcorante

Los edulcorantes no calóricos o también llamados bajos en calorías, en especial los naturales, constituyen hoy una de las áreas más dinámicas dentro del grupo de los aditivos alimentarios. Uno de los endulzantes más antiguos ha sido sin lugar a dudas la sacarosa o azúcar común la cual químicamente está conformada por un disacárido (alfa-glucosa y beta-fructuosa) (Ruben, 2010).

Uno de los temas de factibilidad de registro para los edulcorantes se basa en su dulzor o índice de dulzor, el cual se calcula en relación a la sacarosa de valor. En la tabla 2 se muestra el índice de dulzor de diferentes edulcorantes (Ruben, 2010).

Tabla 2. Índice de dulzor de los edulcorantes no calóricos.

Sustancia	Dulzor	Sabor	Dilución	Termoestabilidad
Sacarina	300	Amargo	Rápida	Termoestable
Ciclamato	50	Metálico	Rápida	Termoestable
Aspartame	180	Sui generis	Lenta	Termolábil
Acesulfame	200	Muy amargo	Rápida	Termoestable
Sucralosa	600	Indetectable	Lenta	Termoestable

Fuente (Rubén., 2010).

2.3.1 Clasificación de los edulcorantes

Los edulcorantes se clasifican en químicos y naturales se muestran en la tabla 3 (Rubén, 2010), los naturales son aquellos que no se le añaden productos químicos o utilizan maquinaria de lujo para obtenerlos. Los edulcorantes químicos son llamados artificiales o sustitutos de azúcar son comúnmente utilizados para sustituir el azúcar en alimentos y bebidas (Neacsu et al., 2014)

Tabla 3. Clasificación de los edulcorantes.

Químicos	Naturales
Sacarina	Taumatina
Arpárteme	Monelina
Acesulfame de potasio	Miraculina
Ciclamato	Esteviosido.

Fuente: (Rubén et al., 2010).

2.3.2 Estevia

La estevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) es una planta herbácea perteneciente a la familia de Asteraceae, crece como arbusto salvaje en el suroeste de Brasil y Paraguay. Está compuesta por un glucósido llamado estevisido en estado puro y cristalino es 300 veces mayor que el azúcar de caña, se caracteriza por reducir la glucosa en la sangre hasta en un 35% (Salvador-Reyes et al., 2014).

Es conocida como hoja dulce, es un arbusto perenne que puede alcanzar de 65 a 80 cm, pero cultivadas pueden llegar a medir hasta 1 m de altura, sus hojas lanceoladas tienen aproximadamente 5 cm de longitud y 2 cm de ancho. Pueden utilizarse para producción comercial por un periodo de cinco a más años, dando varias cosechas anuales, crecen en suelos arenosos cerca de los arroyos de la parte selvática subtropical (Duran et al., 2012).

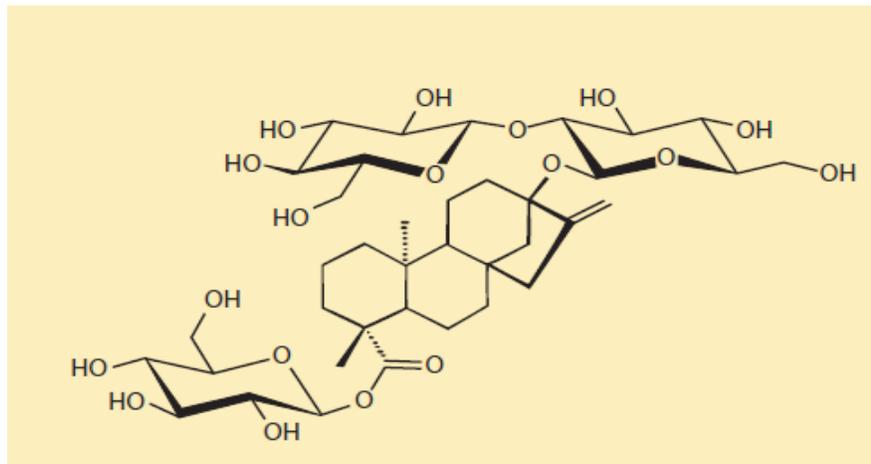


Figura 2. Estructura química de la estevia.

2.33 Composición de la Estevia

Los compuestos responsables del dulzor de la *Stevia rebaudiana* son los glucósidos de steviol aislados los cuales se identifican como esteviosidos o esteviolbiosido, rebaudiosido y dulcosido (Salvador-Reyes et al., 2016).

En la tabla 4, se muestra la composición de glucósidos dulces en las hojas de estevia contenido en % de las hojas en peso seco (Salvador- Reyes et al., 2014).

Tabla 4. Composición de glucósido en peso seco de las hojas de estevia.

Glucósidos	Gardana et al.	Goyal et al.
	(2003)	(2010)
	%	%
Esteviósido	5.8 ± 1.3	9.1
Rabaudiósido A	1.8±0.2	3.8
Rabudiósido C	1.3±0.4	0.6
Dulcósido	ND	0.3

Fuente (Salvador- Reyes et al., 2014) .

2.3.4 Beneficios de la estevia para la salud humana

La estevia tiene efectos bactericidas sobre el *Streptococcus mutans*, responsable de la caries dental al poseer propiedades antimicrobianas y antivirales, por otro lado facilita la digestión, las funciones gastrointestinales mantienen la sensación de vitalidad y bienestar. La disminución del deseo de comer dulce y alimentos grasos (Duran et al., 2012).

2.3.5 Sucralosa

La sucralosa se considera un edulcorante artificial. Es aproximadamente 600 veces más dulce que la sacarosa (azúcar de meza), dos veces más dulce que la sacarina y tres veces más dulce que el aspartame. Es estable bajo calor y en una gama de condiciones de pH. El éxito de comercial de los productos a base de sucralosa se debe a la comparación favorable con otros edulcorantes bajos en calorías en términos de sabor, estabilidad y seguridad (Neacsu et al., 2014).

Es un derivado clorado del disacárido sacarosa, se puede utilizar como edulcorante no nutritivo siendo un sustituto del azúcar es conocido como SPLENDA, el cual contiene 1% de sucralosa y 99% de maltodextrina y dextrosa en producto granulado (Virendar et al., 2012).

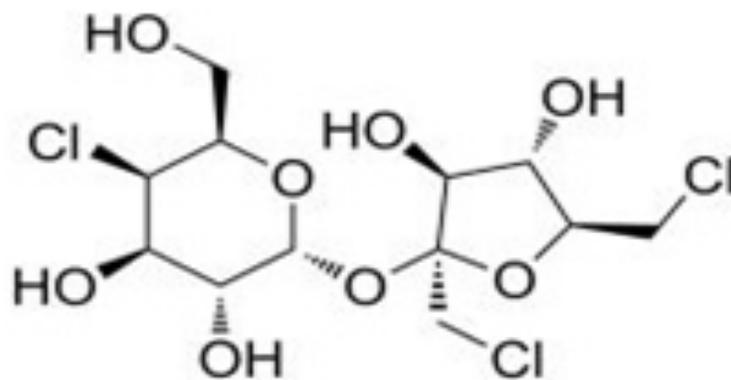


Figura 3. Estructura química de la sucralosa.

2.4 Industrialización de Frutas

La industrialización de productos a base de frutos diversificados añaden un valor y mayor potencial de comercialización: tienen como ventajas alargar la vida útil y la disponibilidad del producto. Los precios pueden ser regulados cuando hay exceso de oferta en el mercado de productos frescos. Otra de las ventajas de la industrialización de frutas es la generación de empleos (Corrales-García et al., 2007).

De acuerdo a la normatividad del CODEX ALIMENTARIUS 2005 y Norma Oficial Mexicana NOM-173-SCFI-2009, las frutas en pueden industrializar en diferentes productos como son:

- ✚ Zumo (Jugo) de frutas.
- ✚ Zumo con jugo concentrado de fruta.
- ✚ Zumo con jugo extraído con agua.
- ✚ Puré de fruta utilizado en la elaboración de zumos y jugos de frutas.
- ✚ Puré concentrado de fruta utilizado en la elaboración de zumos jugos y néctares de frutas.
- ✚ Néctares.

2.4.1 Jugo de frutas

El zumo o jugo de frutas se entiende el líquido sin fermentar, pero fermentable, que se obtiene de la parte comestible de frutas en buen estado, debidamente maduras o frescas que se han mantenido en buen estado por procedimientos adecuados inclusive por tratamientos de superficie aplicados después de la cosecha de conformidad. Algunos jugos de frutas podrán elaborarse junto con sus pepitas, semillas pieles que no puedan eliminarse mediante las buenas prácticas de fabricación.

Los jugos de frutas se preparan mediante procedimientos adecuados que mantienen características físicas, químicas y organolépticas y nutricionales esenciales del jugo de la fruta. Podrán ser turbios o claros y podrán contener

componentes restablecidos de sustancias aromáticas y aromatizantes volátiles (CODEX STAN 247-2005, NOM-173-SCFI-2009).

2.4.2 Néctar de frutas

Por néctar de frutas se entiende el producto sin fermentar pero fermentable, que se obtiene añadiendo agua con o sin la adición de azúcares. Podrían añadirse miel o jarabes o una mezcla de estos. Así como también sustancias aromáticas, compuestos aromáticos volátiles, pulpas o células, todos los cuales deberán proceder del mismo tipo de fruta y obtenerse por medio de procedimientos físicos. (CODEX STAN 247-2005). Por otro lado también se puede definir como un producto susceptible de fermentación pero no fermentado, obtenido por adición de agua y de azúcares o miel al zumo de frutas, al zumo de frutas base de concentrado, al zumo de frutas concentrado, al zumo de frutas deshidratado o en polvo, al puré de frutas o a una mezcla de estos productos, y que es conforme a lo dispuesto en la normativa sobre el consumo mínimo de zumo de puré (Haro, 2006).

2.5 Probióticos

La palabra probiótico deriva del griego y actúan a favor de la vida (Castro et al., 2006). Los probióticos o bacterias ácido lácticas se definen como aquellos microorganismos vivos, cuando se administran en cantidades adecuadas aportan un beneficio al huésped (Mani-Lopez et al., 2014). Son suplementos alimenticios microbianos vivos que benefician al huésped mejorando el equilibrio intestinal (Young et al., 2005).

El probiótico es considerado un producto que contiene un número de microorganismos vivos aportando un efecto beneficioso sobre la salud, a través de una alteración positiva en la microbiota por colonización del intestino (Castro et al., 2006).

Las bacterias probióticas son capaces de tolerar el ácido y bilis que se produce en nuestro organismo así como también de sobrevivir en el tracto intestinal (M.N. Oliveira et al., 2014). Estos microorganismos vivos son ampliamente utilizados en la industria de alimentos como cultivos iniciadores o adjuntos en el proceso de diversos productos lácteos fermentados (Conti et al., 2011).

Para que un microorganismo sea considerado como próbiotico debe presentar las siguientes características: ser habitante normal del intestino humano, no ser patógeno ni toxigénico, sobrevivir al medio ácido del estómago y efecto de bilis en el duodeno, capacidad de adhesión de células epiteliales, adaptarse a la microbiota intestinal sin desplazar la microbiota nativa, ya existente y producir sustancias antimicrobianas (Castro et al., 2006).

Las bacterias probióticas pueden aportar múltiples beneficios a la salud del ser humano, son los siguientes: previenen infecciones gastrointestinales, actúan como antimicrobianos, mejoran el metabolismo de la lactosa, reducen el colesterol sérico, la estimulación del sistema inmune, contienen propiedades anticancerígenas, anticarcinógenas y antidiarreicas (Rivera et al., 2010,). Las bacterias ácido lácticas son utilizadas comercialmente como cultivos iniciadores en la fabricación de alimentos probióticos basándose en lácteos ejemplos de ellos yogurt, bebidas fermentadas (Young et al., 2005).

2.5.1 Géneros de bacterias utilizados como probióticos

Las bacterias en los géneros de bacterias ácido lácticas (LAB) se clasifican por su morfología celular y por la vía de fermentación utilizada para fermentar la glucosa. Estos microorganismos podemos encontrarlos en diferentes alimentos fermentados tradicionales así como también podemos encontrarlos en el proceso de fermentación controlada (Rivera et al., 2010). El consumo regular de microorganismos probióticos está asociado con la regulación de la función intestinal,

la mejora de la digestión de la lactosa, la estimulación del sistema inmune y la inhibición de patógenos (Maia et al., 2013).

Son de gran importancia las bacterias probióticas en la industria alimentaria debido que tienen la capacidad de transformar los azúcares fermentables en ácido láctico, etanol y otros metabolitos, cambian las características del producto reduciendo el pH y creando condiciones favorables evitando el crecimiento de microorganismos patógenos (Rivera et al., 2010).

Los principales géneros de bacterias utilizados como probióticos de forma tradicional son *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, se muestran en la **Tabla 5** (González et al., 2007).

Tabla 5. Microorganismos utilizados como probióticos.

<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Lactobacillus paracasei subsp. paracasei</i>
<i>Lactobacillus crispatus</i>	<i>Lactobacillus paracasei subsp. tolerans</i>
<i>Lactobacillus amylovarus</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>
<i>Lactobacillus gallinarum</i>	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
<i>Lactobacillus gasei</i>	<i>Lactobacillus fermentum</i>
<i>Actobacillus johnsonii</i>	<i>Lactobacillus reuteri</i>
<i>Lactobacillus delbruecki subsp. bulgaricus</i>	<i>Bifidobacterium bifidum</i>
<i>Lactobacillus subsp. Salivarius</i>	<i>Bifidobacterium longum</i>
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Bifidobacterium breve</i>
<i>Bifidobacterium infantis</i>	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>

Fuente (Kandylis et al., 2016).

2.5.2 Mecanismos de acción de los probióticos

En la actualidad se han propuesto varios modos en la efectividad de los probióticos para mejorar la resistencia del huésped contra microorganismos patógenos, son los siguientes.

1. Producen sustancias antimicrobianas como el ácido láctico y otros ácidos de cadena corta, metabolitos como peróxido de hidrogeno, diacetilo y bacteriocitas.
2. Disminuyen el pH intestinal favoreciendo el crecimiento de organismos beneficiosos.
3. Aumentan la resistencia de colonización por competir con patógenos para unirse a los sitios de adhesión en la superficie del epitelio intestinal.
4. Compiten por nutrientes. Las bacterias ácido lácticas pueden utilizar los nutrientes consumidos por nutrientes patógenos.
5. Estimulan la respuesta inmune. Evidencias recientes sugieren que la estimulación de la inmunidad innata y adquirida protegen contra la enfermedad intestinal. Estos microorganismos pueden alertar al sistema inmune y favorecer el rechazo de agentes infecciosos estimulando la producción de inmunoglobulina activando macrófagos e incrementando interferón gamma y citoquinas proinflamatorias (Castro et al., 2006).

En la siguiente tabla 6. Se muestran algunos mecanismos de acción así como ejemplos de algunos probióticos que los llevan a cabo:

Tabla 6. Principales mecanismos de acción propuestos de los probióticos.

Acción	Mecanismo	Ejemplo
Prevención de la colonización por microorganismos patógenos.	Bloqueo de receptores específicos (adherencia) y competencia por nutrientes	<i>L. Rhanosus GG.</i> <i>L. plantarum.</i> <i>S. boulardii</i>
Actividad antimicrobiana	Producción de sustancias con acción antimicrobiana (H ₂ O ₂ bacteriocinas, y ácidos orgánicos.)	<i>L. rhamnosus GG,</i> <i>S. boulardii.</i>

Inmunomoduladora	Regulación de la repuesta inmunitaria humoral y celular.	<i>L. rhamnosus GG.</i> <i>L. acidophilus.</i> <i>Bifidobacterium spp.</i> <i>L. reuteri.</i>
Actividad enzimáticas	Disminución en la actividad de enzimas asociadas con la síntesis de lactosa, y procacínogenos.	<i>S. thermophilus.</i> <i>Lactobacillus spp.</i> <i>Bifidobacterium spp.</i>

Fuente (Amores et al., 2004)

2.5.3 Cepas probióticas

La selección de una cepa como probiótico requiere de efectos fisiológicos beneficiosos, que la cepa sea de origen humano y segura para origen humano, que sea estable al ácido y a la bilis y que se adhiera a células de la mucosa intestinal así como también excluya o elimine la presencia de microorganismos patógenos (Amores et al., 2004).

Las cepas probióticas en los alimentos pueden presentar dos funciones: puede ser en el procesamiento de alimentos y en el desarrollo de alimentos. El primer papel de cepas alimentarias probióticas en los alimentos es tecnológica, se refiere más que nada al papel que desarrolla en los procesos de fermentación en los alimentos. La segunda función de las cepas probióticas en los alimentos es funcional, y es la capacidad de precepción que tienen los microorganismos vivos de aportar beneficios a la salud (Mani et al., 2014).

2.5.4 Supervivencia y viabilidad de los probióticos en los alimentos

Las bacterias probióticas deben estar en cantidades y condiciones adecuadas para ejercer beneficios de impacto al huésped, es por lo tanto que los alimentos o

productos que lo contengan deben tener 1×10^6 UFC/mL, manteniéndose esta concentración durante todo el tiempo de almacenamiento del alimento, esto se puede deber a que la concentración de bacterias durante el paso por el tracto gastrointestinal puede decrecer hasta concentraciones de 1×10^2 y 1×10^5 UFC/mL (González et al., 2007).

La viabilidad de los probióticos es un factor de importancia en los productos: la concentración mínima de microorganismos probióticos en un producto debe estar por arriba de 10^7 UFC/ mL o g (Bevilacqua et al., 2013), se han sugerido un número alto de microorganismos probióticos porque durante el paso a través del estómago un número significativo de células bacterianas mueren, es de gran importancia mantener la supervivencia de la cepa probiótica durante el procesamiento y el almacenamiento del alimento (Nualkaekul et al., 2011).

2.6 *Lactobacillus*

El género *Lactobacillus* tiene un metabolismo fermentativo, se caracterizan por ser aerotolerantes, su crecimiento se da un pH de 4.5 a 5.5. Se clasifican homolácticos y heterolácticos de acuerdo a la vida de fermentación que utilizan (Jurado-Gómez et al., 2013). Se utilizan en la producción industrial de alimentos y hoy como ingredientes funcionales. Su crecimiento se ve afectado en los alimentos por condiciones de fermentación, tales como el pH, temperatura, formulación de medios, todos estos parámetros afectan su supervivencia y funcionalidad. Pueden crecer en rangos de pH, ácidos, suaves y neutros, rangos de temperatura de 2 a 53 °C y un pH óptimo de 5.5- 6.2 (Maia et al., 2013).

2.6.1 *Lactobacillus plantarum*

L. plantarum se describe como una bacteria gram positiva, no esporulada, aerotolerante es capaz de desarrollarse a temperaturas que van desde 15 a 37 °C, produce sustancias antimicrobianas que le ayudan a sobrevivir en el tracto

gastrointestinal (Guerrero, 2011). Son capaces de crecer en un amplio rango de pH y es capaz de arruinar los jugos de frutas mínimamente procesados o frescos debido a su naturaleza de acidez (Sampedro et al., 2006). Este microorganismo tiene una larga historia de ocurrencia natural y uso seguro en una variedad de productos alimenticios, y los estudios clínicos enfatizan estas características deseables para su uso en seres humanos (Pereira et al., 2013).

Tienen un metabolismo fermentativo, estrictamente anaeróbicas. El crecimiento se da a un pH de 4.5- 5.8. Son exigentes en cuanto aminoácidos, péptidos, nucleótidos, vitaminas, minerales ácidos grasos y carbohidratos (Jurado-Gómez et al., 2013)

Se caracteriza por ser una bacteria ácido láctica, facultativa y heterofermentativa (Agudelo et al., 2010). *L. plantarum* es perteneciente al grupo de bacterias ácido lácticas, este microorganismo cuenta con una historia en la cual se ha utilizado de manera natural y se puede utilizar de manera segura en diferentes alimentos funcionales, estudios clínicos lo recomiendan para el uso de consumo humano (Pereira et al., 2013).

2.7 Cactáceas

La familia de las cactáceas está constituida aproximadamente 1600 especies. Los miembros pertenecientes a esta familia se encuentran en forma nativa desde Chile, Argentina hasta Canadá, y se pueden clasificar en tres tipos: tunas, pitayas (trepadoras) y pereskias (columnares). Estas plantas se caracterizan por utilizar de manera eficiente el agua (con cinco a diez veces mayores que los cultivos convencionales) lo que ocasiona que el requerimiento del agua sea más bajo. Dentro de la agrupación de las especies existen alrededor de 35 especies, que tienen un potencial uso del cual se pueden obtener frutos, vegetales y forraje (Esquivel, 2004).

En el Valle de Tehuacán en el estado de Puebla existen cerca de 45 especies de cactáceas columnares, por lo cual se le denominan matorral xerófilo con dominancia de cactáceas columnares (Bárcenas et al., 2010).

2.7.1 Pitaya

Son plantas arborescentes que cuentan con una altura de 6 a 9 m, sus ramas y tronco se caracterizan por estar bien definidos con un diámetro de 35 cm. El número de costillas, espinas, tamaño y color del fruto son las principales características que los diferencian (Bárcenas et al., 2010).

Pitaya es el nombre que se le da a las especies del género *Stenocereus*, esta cactácea se desarrollan en cactus columnares que son adaptables en zonas áridas y semiáridas. En este género se pueden encontrar diferentes especies como lo son *Stenocereus queretaroensis*, *Stenocereus pruinosus*, *Stenocereus griseus* y *Stenocereus stellatus* (García-Cruz et al., 2015).

El fruto (pitaya) llega a pesar entre 20 a 200 g de peso, se caracteriza por contener una pulpa sabrosa, con diferentes tonalidades, con semillas pequeñas, blandas y comestibles, cubierta con espinas deciduosas, además su vida útil es entre 4 y 5 días. Los atractivos colores que presenta en la cascara y en la pulpa se debe a la presencia de betalainas. (García-Cruz et al., 2015).

2.7.2 Principales estados productores de pitaya en México

En la actualidad existe el interés comercial por los frutos que se obtienen de los cactus columnares tanto para mercados nacionales como internacionales, tal es el caso de la frutas conocidas regionalmente como pitayas es un nombre genérico que se le da a las especies de los cactus Mexicanos, tales como *Stenocereus griseus* y *Stenocereus stellatus* que se producen en Oaxaca y Puebla, *Stenocereus queretaroensis* en Querétaro, Jalisco y Michoacán (García-Suárez et al., 2007).

2.7.3 Localización de zonas productoras

En México, el género *Stenocereus* está representado por aproximadamente 19 especies distribuidas desde la península de Baja California, pasando por la cuenca del pacífico al estado de Chiapas, y a lo largo de la Cuenca del Golfo desde Tamaulipas hasta Veracruz (Beltrán-Orozco et al., 2009)

Stenocereus, conocida como pitaya agria, crece de manera natural en México en los estados de Oaxaca, Puebla, Querétaro, actualmente se comercializa en los estados de Oaxaca, Puebla, Morelos Jalisco, Michoacán Guerrero, Querétaro, Guanajuato y Nayarit. *Stenocereus stellatus* se produce en la región del Sur de la Mixteca Baja tanto de Oaxaca como de Puebla (Pliego, 2009).

2.7.4 Distribución de la pitaya en la Mixteca

En la región de la Mixteca Baja, se encuentran tres especies de pitayo; *S. griseus* (pitaya de mayo) seguida *S. stellatus* y *S. pruinosus* (copetla). La Mixteca Baja es la segunda región productora del país y abarca los estados de Oaxaca y Puebla figura 4. (Martínez et al., 2011).

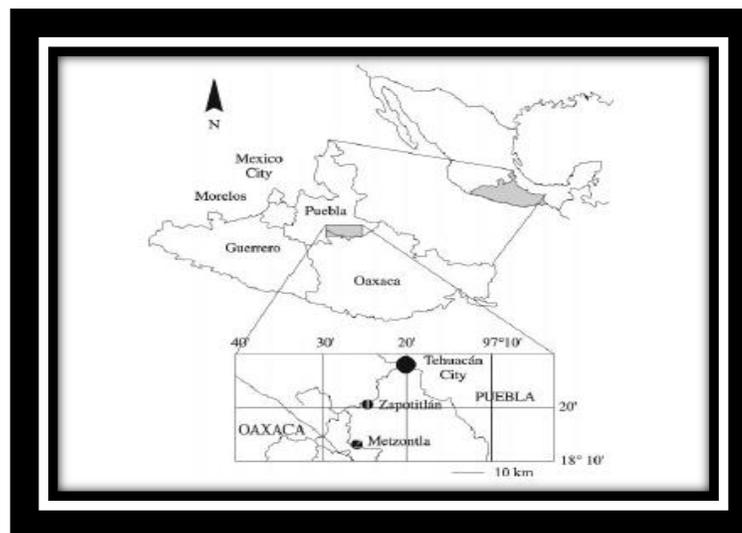


Figura 4. Distribución geográfica de la pitaya en la Mixteca (Rojas–Aréchiga et al., 2001).

2.7.5 Usos de la pitaya

El motivo de atención en México por el consumo de la pitaya se atribuye al agradable sabor de sus frutos, caracterizándose por el sabor agridulce que contiene su pulpa, este tipo de especies de cactáceas tienen un potencial en mercados regionales, nacionales e internacionales. Tiene gran demanda por sus propiedades organolépticas (color, sabor y aroma) se consume como fruta fresca, en aguas frescas, helados y mermeladas (Campos- Montiel et al., 2011). Los frutos son consumidos generalmente como frutos de mesa o para elaborar agua fresca, helado, gelatina, mermelada y licores, por otro lado la pitaya tiene presencia de fenoles y alta actividad antioxidante lo cual es una fuente importante de productos antioxidantes (Martínez et al., 2011).

La pitaya es un fruto fresco y dulce, tiene un importante aporte nutricional el cual proviene de su alto contenido de azúcar así como de las cantidades considerables de vitaminas de B, C, y E. (Beltrán-Orozco et al., 2009). Es un recurso alimenticio importante para la población rural, caracterizándose por el succulento de sus tejidos, cantidad de azúcares y pigmentos de sus frutos, así como también se pueden extraer pectinas presentes en la cascara y en la pulpa del fruto (Bárceñas et al., 2010).

2.7.6 *Stenocereus*

Las especies del género *Stenocereus* producen frutos llamados pitayas, con la característica que al madurar pierden sus espinas facilitando su comercialización y consumo (Barceñas et al., 2010).

De 22 a 24 especies del género *Stenocereus*, entre 17 a 20 se encuentran en México, y ocho de estas especies se encuentran cultivadas en el centro-sur del país. Para la región Mixteca baja se han consignado *S. pruinosus*. *Stenocereus stellatus* y *Stenocereus griseus* son especies nativas del sur de México, presentan una amplia variación morfológica y tienen uso múltiples que van desde el consumo del fruto y semilla (Luna et al., 2001).

2.7.7 Clasificación botánica de la pitaya

Actualmente existen diversas variedades de pitaya en nuestro país, tomando en cuenta las variantes como son el color, tamaño, grosor de la cascara, flor y la presencia y posición de las espinas, en la tabla 7, se muestra la clasificación taxonómica de la pitaya genero *Stenocereus*.

Tabla 7. Clasificación taxonómica del genero *Stenocereus*.

Reino	Vegetal
Subreino	Embriophyta
División	Angiospermae
Clase	Dicotyledoneae
Orden	Cactales
Familia	Cacteaceae
Subfamilia	Cantoideae
Tribu	Pachycereae
Subtribu	Stenocereinae
Genero	Stenocereus
Especie	Stenocereus spp

Fuente:(Pliego, 2009).

2.7.8 *Stenocereus stellatus*

La especie *Stenocereus stellatus* es una planta columnar generalmente ramificada desde su base llega a medir de 4 a 5 m de alto. Sus tallos presentan de 8 a 12 costillas rectas. Posee espinas grisáceas de 9 a 13 radicales y 3 centrales. Sus flores son de color blanco con tinte rosa, infundibuliformes miden de 5 a 6 cm de largo y nacen en las puntas de las ramas (a veces en corona). Florecen entre los meses de junio y julio (Flores et al., 2011). Por otro lado este cactus columnar es muy resistente a la sequía el cual produce frutos comestibles llamados pitayas, los cuales representan una alternativa económica para los campesinos de la regiones semiáridas de México (Beltrán-Orozco et al., 2009)

A este tipo de variedad se le pueden dar nombres como xoconostle, son pequeños frutos con un diámetro de aproximadamente 3 cm, de color rojo y sabor ligeramente ácido maduran en agosto (Barcenas et al., 2010)

Stenocereus stellatus es una especie originaria de los estados de Morelos, Oaxaca y Puebla, se caracteriza por ser altamente endémica y micro-areal en el triángulo Tehuacán-Balsas y Tehuantepec (Flores et al., 2011).

2.7.9 Contenido químico de la pitaya (*Stenocereus stellatus*)

La demanda de frutos de cactus ha aumentado en todo el mundo debido a su delicioso sabor y a sus propiedades nutricionales. Sin embargo muchos de ellos se consumen en fresco regionalmente, no se ha realiza una caracterización total de sus nutrientes En la tabla 8 se muestra una caracterización proximal de los nutrientes de la pitaya *Stenocereus stellatus*.

Tabla 8. Composición química de la pitaya *Stenocereus stellatus* coloración morada.

Componentes	%
Humedad	86.65±0.13
Cenizas	0.55±0.00
Proteínas	1.30±0.02
Lípidos	0.47±0.08
Fibra cruda	1.39±0.00
Carbohidratos	9.5±0.02

Fuente: (Pérez-Loredo et al., 2016).

2.8 Proteína vegetal

Debido a la gran cantidad de grasas saturadas y colesterol que usualmente están presentes en las proteínas de origen animal la mayoría de organizaciones de la salud recomienda incrementar el consumo de proteínas vegetales las cuales pueden reducir los niveles de colesterol y el riesgo de enfermedades coronarias y diabetes (Aragón et al.,2012).

Las proteínas vegetales están compuestas por una fuente de nutrimentos e ingredientes funcionales, por su variedad disponibilidad y costo, se pueden obtener principalmente de semilla, leguminosas, cereales y oleaginosa y en baja proporción de hojas verdes (Badui, 2006).

La función biológica que presentan las principales proteínas vegetales que se explotan comercialmente forman parte del endospermo de la semilla, a la que nutren durante la germinación y desarrollo, son procesos donde se modifican los niveles de diferente proteínas. El grupo proteínico predominante va a variar de acuerdo a la agrupación de planta de la que se trate: en el caso de los cereales dominan las glutelinas, y en las leguminosas las globulinas (Badui, 2006).

2.8.1 Proteínas obtenidas a partir de leguminosas

La utilización de proteínas de origen vegetal está ganando importancia debido a la necesidad mundial de búsqueda de fuentes de proteína de alta calidad y de bajo costo, especialmente en países en vía de desarrollo (Miquilena et al., 2012). Las leguminosas constituyen una amplia familia de plantas, muchas de la cuales son cultivadas con fines comerciales como el frijol (*Phaseolus vulgaris*), garbanzo (*Cicrearietinum*), lenteja (*Lens culinaris*), soya (*Glycinemax*) o arveja (*Pisumsativum*). El valor nutricional de estas plantas se debe al alto contenido de proteínas minerales y vitaminas de sus semillas (Aragón et al., 2012).

2.8.2 Composición Taxonómica del Frijol ayocote

El género *Phaseolus* comprenden más de 70 especies, todas ellas de América y cinco grupo domesticados, *P. vulgaris* L, *P Lunatus* L, *P. acutifolius* A, Gray., *P. coccineus* L, y *P dumosus* Macfady tienen distintas distribuciones geográficas, historias de vida y sistemas de producción (Schwember et al., 2017).

Es una especie adaptada en ambientes variados, muestra diversidad genética alta debido a su porcentaje de cruzamiento natural (14.7%) y es por ello que requiere un manejo agronómico diferente al frijol común (Vargas et al., 2014). Es una especie perenne de las tierras altas tropicales húmedas de Mesoamérica que puede vivir hasta 10 años, por lo general se cultiva de forma anual para semillas secas. También se cultiva ocasionalmente como ornamental debido a sus vistosas flores escarlatas o blancas ubicadas en sus racimos largos que se extruye del follaje especialmente en plantas trepadoras (Schwember et al., 2017).

2.8.3 Frijol ayocote (*Phaseolus coccineus* L.)

Actualmente los frijoles ayocotes se cultivan en Norte y Sur de América y Europa. En México se cultiva como una planta anual o bianual y se consume en regiones como Puebla, Chiapas, Chihuahua, Durango y Zacatecas (Vargas-Vásquez et al., 2011).

Pertenece a la familia de las leguminosas, es de importancia y considerada uno de los granos más consumidos por la población Mexicana. Además es una de las fuentes más enriquecidas con carbohidratos y proteínas (Teniente-Martínez et al., 2016).

El ayocote (*Phaseoleus coccineus* L.) también conocido patol frijolon, pak y cimarron. Las clases comerciales de grano que más predominan son las de grano grande y colores negros, morados y blancos, estas son apreciable y consumidas por comunidades campesinas ubicadas en zonas de cultivo marginadas en tierras altas y ocasionalmente en mercados locales (Vargas et al., 2014). Es una leguminosa nativa de México con gran potencial de uso y aprovechamiento con fines alimenticios para la población humana mediante el uso de follaje, flores, vainas y semillas (Ayala et al., 2006).

Se cultiva en forma anual, pero en su habita natural crece en forma perenne en regiones húmedas en altitudes de más 1800 msnm. Después del frijol común, el

frijol ayocote es la segunda especie de mayor importancia para la alimentación de los Mexicanos (Vargas et al., 2012).

2.8.4 Contenido nutricional del frijol

El frijol es una fuente barata y rica de proteínas (20-25%) y carbohidratos (50-60%) para una gran parte de la población mundial (Osorio-Díaz et al., 2004). En la tabla 9 se muestra la composición química proximal del frijol ayocote (*Phaseolus coccineus* L.).

Tabla 9. Composición química proximal del frijol ayocote (*Phaseolus coccineus* L.).

Composición	Variedad de frijol ayocote	
	Negro	Morado
Humedad%	9.37	9.62
Cenizas %	3.50	3.77
Grasas %	3.50	3.78
Proteína %	23.80	21.93
Carbohidratos totales %	59.83	60.90

Fuente: (Teniente-Martínez et al., 2016).

ANTECEDENTES

3. ANTECEDENTES

Agudelo et al., (2010). Realizaron la comparación del comportamiento cinético de dos inóculos lácticos *L. plantarum* A6 y bacterias ácido lácticas de yogurt comercial. Para cada cepa se midió la biomasa mediante el conteo en placa, consumo de azúcares totales y ácido láctico. *L. plantarum* A6 tuvo mejor desarrollo en el medio líquido alternativo en cuanto a parámetros de crecimiento (19 g/L de biomasa), consumo de sustrato (97.6%), y generación de ácido láctico (18g/L) en comparación con las bacterias ácido lácticas del yogur.

Daneshi et al., (2013). Estudiaron la viabilidad y el metabolismo de cuatro cepas probióticas (*L. acidophilus* LA5, *B. lactis* BB12, *L. rhamnosus* y *L. plantarum*) en una bebida no fermentada en la mezcla de leche/jugo de zanahoria. Evaluaron en las bebidas recuento de células viables, pH, acidez y sedimentación durante almacenamiento de 20 días. Los resultados mostraron que todas las cepas tuvieron una viabilidad aceptable en la bebida (88-98%) pero *L. acidophylus* LA5 fue más estable, los niveles de pH y acidez variaron entre 5.33-6.6 y 0.13-0.31%, la mayor sedimentación se mostró en bebidas con *L. rhamnosus* (3.73mL/10mL).

Pérez-Loredo et al., (2016). Caracterizaron las propiedades fisicoquímicas de cuatro coloraciones de pulpa roja, púrpura, amarilla y blanca de la pitaya *Stenocereus stellatus*, encontrando como principales componentes el contenido de humedad con un total de 85.39-86.65%, carbohidratos de 9.65-10.85% y una relación de azúcar:acidez de 12 a 20 mencionando que la pitaya tiene un sabor agridulce.

Teniente et al., (2016). Evaluaron la influencia de la colecta sobre la composición química de los aislados proteicos de dos variedades de frijol ayocote (*Phaseleus coccineus* L). Encontraron que las harinas de frijol mostraron una concentración de proteína de 21.93% para el frijol morado y 23.80% para el frijol negro, los aislados proteicos presentaron una concentración de proteínas del 93.14% para el frijol morado y 95.53% para el frijol negro.

JUSTIFICACIÓN

4. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad la población requiere de alimentos novedosos que tenga una funcionalidad y cubran las necesidades nutrimentales así como también un aporte beneficioso de salud y que sean de fácil acceso. Para satisfacer estas necesidades sean incorporado probióticos en bebidas lácteas adicionadas con jugo de frutas, sin embargo no se ha desarrollado una bebida láctea con pitaya.

La pitaya por ser una fruta de temporada y perecedera presenta problemas de industrialización para los productores del municipio de Totoltepec de Guerrero, Puebla, por otro lado existe una red nacional de instituciones de investigación que están valorando aprovechar este tipo derivados nutraceuticos para poder controlar enfermedades crónico degenerativas. Por lo que sería de gran beneficio para la población y los productores el aprovechamientos de este fruto el cual se puede utilizar en la elaboración de un alimento, debido a sus componentes bioactivos como son sus antioxidantes podría formar parte de una bebida o alimentos funcional que son aquellos que mejoran la salud, previniendo enfermedades crónico degenerativas y regenerando la flora intestinal. Por tal motivo en la presente investigación se desarrolló una bebida láctea adicionada con jugo de pitaya, probiótico y proteína vegetal.

OBJETIVOS

5. OBJETIVOS

a. Objetivo General

Desarrollar y caracterizar una bebida láctea con jugo de pitaya (*Stenocereus stellatus*) adicionada con un probiótico y proteína vegetal.

b. Objetivos Específicos

- Evaluar fisicoquímicamente la pulpa de pitaya y el jugo de pitaya de (*Stenocereus stellatus*).
- Elaborar bebidas con jugo de pitaya a diferentes concentraciones de *L. plantarum* y seleccionar la que presente viabilidad probiótica.
- Evaluar la viabilidad de *L. plantarum* en formulaciones diferentes de bebidas lácteas y seleccionar las que presenten mayor viabilidad.
- Elaborar bebidas lácteas probióticas utilizando diferentes concentraciones de aislado proteínico de frijol ayocote.
- Evaluar sensorialmente mediante una prueba de aceptación al consumidor la bebida láctea con proteína de frijol ayocote con características probióticas.

MATERIALES Y MÉTODOS

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Materiales

La pitaya (*Stenocereus Stellatus*) fue obtenida de los huertos del municipio de Totoltepec de Guerrero, Puebla durante los meses de Agosto, Septiembre y mediados de Octubre del año 2016. Se transportó a la ciudad de Tuxtepec para posteriormente almacenarla en el laboratorio de Desarrollo de Nuevos Productos ubicado en el Instituto Tecnológico de Tuxtepec, para transportar la fruta se utilizaron canastos de carrizo con una capacidad de 9 Kg, el transporte del municipio de Totoltepec de Gurrero a la ciudad de Tuxtepec, Oaxaca fue de 11 horas.

La cepa probiótica *Lactobacillus plantarum* se obtuvo de la casa Danisco Cultor. Aislado proteínico de frijol ayocote (*Phaseolus coccineus L.*) fue donado por el Instituto Tecnológico de Celaya.

Leche descremada UHT ®

Sucralosa Splenda ®

Stevia con stevia METCO®

6.2 Obtención y conservación de la pulpa de pitaya



Figura 5. Diagrama de bloques para la obtención y conservación de la pulpa de pitaya.

6.2.1 Recolección de la materia prima

La pitaya fue cortada en los huertos del municipio de Totoltepec de Guerrero Puebla, la fruta se empacó con espinas en canastos de carrizo por la razón de que en este tipo de cestos se mantiene la fruta fresca, posteriormente se trasladó a las instalaciones del Instituto Tecnológico de Tuxtepec, (ver figura 6).



Figura 6. Recolección de la materia prima.

6.2.2 Separación manual de las espinas

Las espinas fueron eliminadas utilizando guantes de plástico, con la finalidad de evitar cualquier lesión en las manos (ver figura 7).



Figura 7. Separación manual de espinas.

6.2.3 Selección de frutos

Se seleccionaron frutos al azar de cada lote que fue transportado con el propósito de determinar los grados °Bx utilizando un refractómetro y seleccionar aquellos

frutos que tuvieran entre 9 a 11°Brix, en la figura se muestra un lote de frutos seleccionados (ver figura 8).



Figura 8. Selección de frutos.

6.2.4 Lavado del fruto

La pitaya fue lavada en un contenedor el cual contenía agua con una mezcla de solución clorada al 1%, (Ver figura 9).



Figura 9. Lavado del fruto.

6.2.5 Obtención de la pulpa de pitaya

La pulpa se obtuvo cortando la pitaya por mitad, retirándole la cascara y posteriormente se colocaron en las bolsas para empacar al vacío (ver figura 10)



Figura 10. Pulpa de pitaya sin cáscara.

6.2.6 Empacado al vacío

La pulpa se colocó en bolsas para sellar al vacío (Food Saver) inmediatamente después se procedió a sellarlas utilizando una selladora al vacío marca ORVD® modelos VM-16 (ver figura 11).



Figura 11. Bolsas con pulpa antes y después del empacado al vacío.

6.2.7 Escaldado

Las bolsas Food saver conteniendo la pulpa y selladas al vacío, se someten a un proceso de escaldado al vapor utilizando un autoclave y alcanzando una

temperatura de 100°C por 10 minutos (ver figura12), terminando este proceso de escaldado se disminuye inmediatamente la temperatura para favorecer el choque térmico.



Figura 12. Autoclave utilizando para el escaldado de la pulpa de pitaya.

Por último las bolsas son almacenadas en congelación a una temperatura aproximada de -18 °C (ver figura 13)



Figura 13. Pulpa de pitaya congelada.

6.3 Obtención del rendimiento de la pulpa de pitaya

Las partes que conforman la pitaya son pulpa y cascara, para la obtención del rendimiento se obtuvo mediante tres lotes de pitaya para conocer el % porcentaje de pulpa y merma.

$$\%Rendimiento = \frac{\text{Peso del producto final}}{\text{peso del producto inicial}} \times 100$$

Peso del producto final = pulpa y cascara

Peso del producto inicial = cantidad total de la fruta entera

6.4 Análisis fisicoquímico

Tabla 10. Componentes fisicoquímicos utilizados en pulpa de pitaya fresca.

Determinación	Método
pH	Inmersión del electrodo
Sólidos solubles (°Brix)	AOAC, 2005
Azúcares reductores	(Lane & Eynon) AOAC, 2005
Acidez titulable	AOAC, 2005

6.5 Análisis químico proximal

Tabla 11. Componentes del AQP evaluados en la pulpa de pitaya fresca, jugo de pitaya, batido de pitaya, jugo endulzado pasteurizado.

Determinación	Método
Humedad por pérdida de peso	(925.10 AOAC, 1997) por pérdida de peso
Cenizas	(923.03. AOAC, 1997) por calcinación
Grasas en equipo Soxhlet	(920.39. AOAC, 1997) en equipo Soxhlet
Proteínas en equipo Kjendhal	(920.87, AOAC, 1997) en equipo Kjeldahl
Carbohidratos	(Por diferencia)

6.6 Proceso de obtención del Jugo de pitaya (*S. stellatus*) utilizando una tecnología convencional.

En la obtención del jugo de pitaya se utilizó pulpa congelada la cual se encontraba almacenada a -18 °C se descongeló en refrigeración durante 12 horas, después en un extractor convencional Oster MOD® 3179-13, 1008-2 se agregó 200 mL de pulpa de pitaya dando un tiempo de prensado de 1 minuto, por último se filtró en una coladera obteniendo un jugo filtrado.

6.7 Proceso de obtención del batido de pitaya (*S. stellatus*) utilizando una tecnología ciclónica.

Para la obtención del batido se utilizó pulpa de pitaya que se encontraba en congelación a -18 °C, se descongeló en refrigeración durante 12 horas a una temperatura de 4 °C, posteriormente se agregaron 200 mL de la pulpa descongelada en el Nutribullet® dándole un tiempo de molienda de 1 minuto por último fue filtrada en una coladera mediante este proceso se obtuvo el batido de pitaya.

6.8 Proceso de obtención del jugo endulzado pasteurizado.

La pulpa almacenada en congelación a -18 °C, se descongela a temperatura de refrigeración a 4 °C en un tiempo de 12 horas, una vez descongelada, se pesan 200 mL y se somete a un proceso de batido utilizando la tecnología ciclónica en un equipo Nutri-bullet® (marca ance) durante 1 min. Obteniendo la pulpa batida se vacía en frascos ámbar de 100 mL previamente esterilizados al batido se le agrega y estevia marca Stevia METCO® y sucralosa marca Splenda® en una relación 5:1 p/p y se pasteurizan a 63 °C durante 30 minutos (ver figura 14).



Figura 14. Elaboración del jugo endulzado pasteurizado.

6.9 Preparación del inóculo *L. plantarum*.

Se tomaron 5 azadas de platino de la cepa liofilizada de *L. plantarum* la cual se encontraba en congelación a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, posteriormente se preparó el medio MRS para poder inocular en tubos de ensaye por duplicado (T1, T2, T3).

6.10 Activación del *L. plantarum* en medio MRS

La activación consta de tres subcultivos rutinarios de 12, 10 y 8 horas. Se prepararon tubos por duplicado (T1, T2, T3) conteniendo medio MRS. En el siguiente figura se muestra el proceso de activación de *L. plantarum* (ver figura 15)

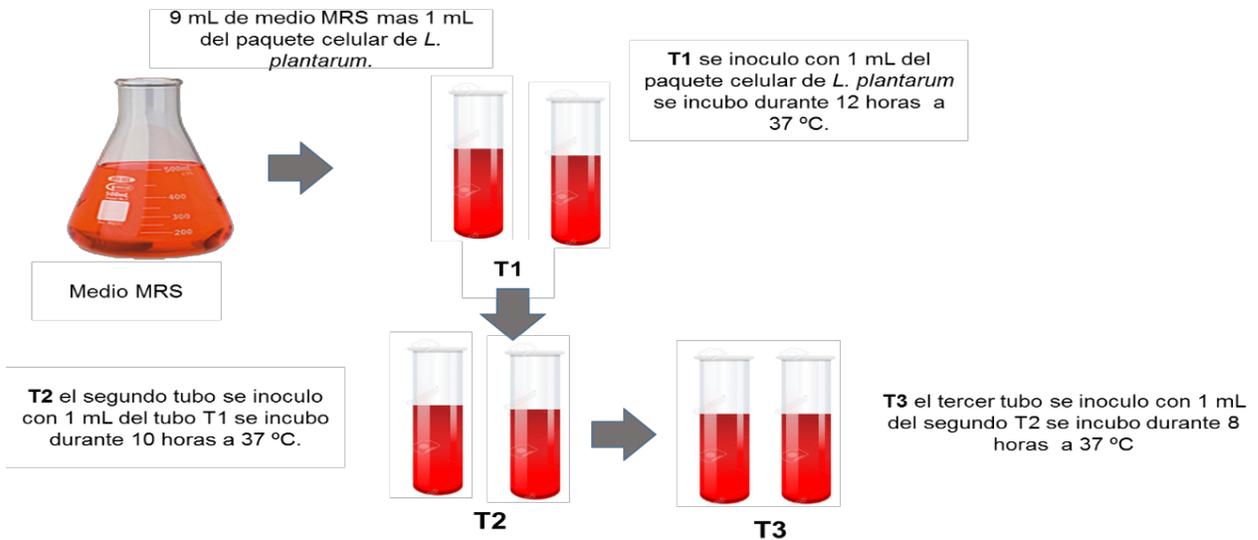


Figura 15. Activación del *L. plantarum* en medio MRS.

6.11 Propagación del *L. plantarum*

En esta etapa se preparó 500 mL de medio MRS (Man, Rogosa, Sharpe) en un matraz Erlenmeyer. Para la preparación de matraces con medio MRS utilizados en la propagación, se tomó 1 mL del tubo T3 de 10 horas y se colocó en el matraz por cada 100 mL de medio. Por último el matraz ya inoculado se incubo a 37 °C durante 24 horas en un sistema de anaerobiosis (ver figura 16).

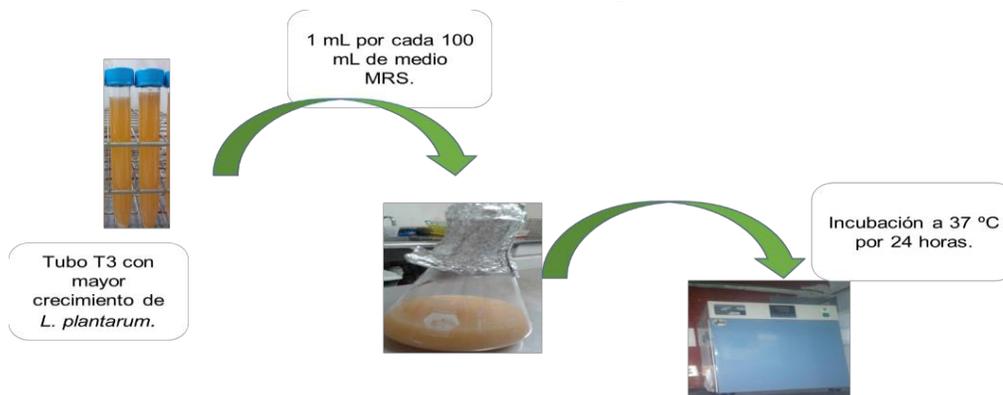


Figura 16. Propagación del *L. plantarum*.

6.12 Obtención del paquete celular

Para la obtención del paquete celular, el medio propagado con *L. plantarum* se vació en tubos cónicos y se centrifugaron a 3000 g x 15 minutos a una temperatura de 6 °C, en la cual se obtuvieron pallets, los pallets celulares se lavaron 2 veces con una solución reguladora de fosfato Sorensen. Obtenido el paquete celular para su conservación se mantuvo en refrigeración durante 20 días a una temperatura de 6 °C (Ver figura17).



Figura 17. Obtención del paquete celular.

6.13 Elaboración de la bebida de Pitaya (*S. stellatus*) con una relación agua/ jugo pitaya

Después de la obtención del batido de pitaya mediante una tecnología ciclónica de batido se procedió a la elaboración de una bebida agua-jugo de pitaya agregando una mezcla de edulcorantes bajos en calorías como lo son la estevia marca Stevia METCO® y sucralosa marca Splenda ® en una relación 5:1 p/p, se envasaron en frascos color ámbar de 100 mL previamente esterilizados, agregando agua desionizada de acuerdo a la relación a los tratamientos evaluados, siguiendo un proceso de pasteurización a una temperatura de 63 °C por 30 minutos, se dejaron enfriar las bebidas a una temperatura de 30 °C para continuar con la inoculación del probiótico, agregando concentraciones de 0.25% y 0.5% de *Lactobacillus*

plantarum, las bebidas se incubaron a 37 °C hasta obtener el pH ideal dando un intervalo de 1 hora se medía el pH, alcanzando el pH deseado se retiraron las bebidas y fueron refrigeradas en un refrigerador marca Whirlpool® a temperatura de 4°C.

6.14 Elaboración de una bebida láctea (*S. stellatus*) con una relación leche/jugo de pitaya

Para la elaboración de la bebida láctea, ya obteniendo el jugo de pitaya pasteurizado con estevia y sucralosa en una relación 5:1 y sin estevia y sucralosa se colocó en frascos ámbar de 100 mL previamente esterilizados de acuerdo a los tratamientos estudiados se mezcló con leche descremada UHT comercial en una relación leche/jugo de pitaya, posteriormente se agitaron para mezclarlos, posteriormente se inocularon a una concentración de 0.25% de *L. plantarum*, las bebidas inoculadas se incubaron a 37°C y en un intervalo de 1 hora se medía hasta alcanzar el pH óptimo se retiraron y se almacenaron en refrigeración en un refrigerador marca Whirlpool® a temperatura de 4°C para su análisis fisicoquímico y microbiológico..

6.15 Elaboración de una bebida láctea probiótica de pitaya enriquecida con proteína vegetal

En frascos ámbar de 100 previamente esterilizados se elaboraron bebidas lácteas enriquecidas con proteína vegetal de acuerdo a las relaciones 1:2 y 1:4 leche/ jugo, se agregó leche descremada UHT comercial y jugo de pitaya pasteurizado con estevia y sucralosa con relación 5:1 y jugo pasteurizado sin estevia y sucralosa. Para la obtención del *L. plantarum* al 1%, se tomó 1 mL del paquete celular y se diluyó en cada 100 mL de una solución reguladora de fosfato Sorensen, se inocularon todas las bebidas a una concentración del 0.25% del *L. plantarum*, posteriormente tanto a las bebidas con estevia y sucralosa y sin estevia y sucralosa se les adiciono tres diferentes concentraciones de aislado proteínico de frijol ayocote de 0.5, 1.5 y 2.5 g/L de proteína vegetal.

Las bebidas ya inoculadas y enriquecidas con proteína vegetal se incubaron a 37 °C hasta alcanzar un pH de 4.3. Para su conservación estuvieron almacenadas en refrigeración a temperatura de 4 °C. Para la realización del análisis microbiológico y fisicoquímico se tomaron muestras cada 7 días durante 21 días de almacenamiento (ver figura 18).



Figura 18. Diagrama del desarrollo de una bebida láctea con jugo de pitaya y proteína vegetal.

6.16 Estrategia experimental

El diseño de experimentos consistió en tres etapas, en la etapa I se elaboró una bebida agua- jugo de pitaya utilizando dos diferentes concentraciones de *L. plantarum* al 0.25% y al 0.5% en cuatro diferentes tratamientos 0:1,1:1,1:2 y 1:4 teniendo como variables de respuesta pH y viabilidad, donde se seleccionó la concentración al 0.25 del *L. plantarum*. Para la etapa II se desarrolló una bebida láctea con jugo de pitaya pasteurizado, utilizando la concentración 0.25% de *L. plantarum*, seleccionada en la primera etapa en tratamientos como 0:1, 1:1, 1:2 y 1:4, las variables de respuesta fueron pH, viabilidad, acidez titulable los mejores tratamientos de acuerdo a viabilidad, pH y acidez. Etapa III, en esta etapa se estudiaron los tratamientos seleccionados de acuerdo a las variables de respuesta de la segunda etapa que fueron los tratamientos 1:2 y 1:4, se desarrollaron bebidas lácteas probióticas con jugo de pitaya de acuerdo a los ya mencionados adicionando proteína vegetal a tres diferentes concentraciones de 0.5, 1.5 y 2.5 g/L, sus variables de respuesta fueron: viabilidad, pH, acidez titulable, sinéresis, prueba de aceptación

Tabla 12. Bebida de pitaya agua-jugo jugo de pitaya (Etapa I).

Tratamientos	Relación agua/ jugo pitaya v/v	Con Stevia/sucralosa (5:1)		Concentración de <i>L. plantarum</i>
		Con Stevia/sucralosa	Sin Stevia/sucralosa	
1	0:1	✓		0.25%
2	1:1	✓		
3	1:2	✓		
4	1:4	✓		
5	0:1		✓	0.5%
6	1:1		✓	
7	1:2		✓	
8	1:4		✓	
9	0:1	✓		0.5%
10	1:1	✓		
11	1:2	✓		
12	1:4	✓		
13	0:1		✓	
14	1:1		✓	
15	1:2		✓	
16	1:4		✓	

Tabla 13. Bebida láctea leche -jugo de pitaya (Etapa II).

Tratamientos	Relación leche: jugov/v	Con Stevia/sucralosa	Sin Stevia/sucralosa	Concentración de <i>L. plantarum</i>
		(5:1)		
1	0:1	✓		0.25%
2	1:1	✓		
3	1:2	✓		
4	1:4	✓		
5	0:1		✓	
6	1:1		✓	
7	1:2		✓	
8	1:4		✓	

Tabla 14. Bebida láctea leche-jugo de pitaya enriquecida con proteína vegetal (Etapa III).

Tratamiento	Relación leche:jugo v/v	Concentración de Proteína vegetal (g/L)	Con Stevia/sucralosa	Sin Stevia/sucralosa	Concentración de <i>L. plantarum</i>
			(5:1 p/p)		
1	1:2	0	✓		0.25%
2	1:2	0.5	✓		
3	1:2	1.5	✓		
4	1:2	2.5	✓		
5	1:4	0	✓		
6	1:4	0.5	✓		
7	1:4	1.5	✓		
8	1:4	2.5	✓		
9	1:2	0		✓	
10	1:2	0.5		✓	
11	1:2	1.5		✓	
12	1:2	2.5		✓	
13	1:4	0		✓	
14	1:4	0.5		✓	
15	1:4	1.5		✓	
16	1:4	2.5		✓	

6.17 Variables de respuesta evaluadas en las bebidas agua-jugo de pitaya, leche- Jugo de pitaya y leche-jugo de pitaya enriquecida con proteína vegetal durante 21 días de almacenamiento

Las variables de respuesta fueron, viabilidad de *L. plantarum* y pH para la etapa I, viabilidad, pH y acidez titulable para la etapa II y III fueron viabilidad pH, acidez titulable, sinéresis se llevaron a cabo durante los días 0, 7,14 y 21 días de almacenamiento.

6.17.1 Determinación de pH

Se determinó por inmersión del electrodo en la bebidas utilizando un potenciómetro Instrument Ultra Basic modelo UB-10 (Mani-Lopez et al., 2014).

6.17.2 Determinación de acidez titulable (% de ácido láctico)

Se midieron 5 mL de la bebida láctea leche-jugo de pitaya enriquecida con proteína vegetal se mesclo con 5 mL de agua destilada, la mezcla se colocó en un matraz de 25 mL y se aforo con agua destilada, se agito y se dejó sedimentar 15 minutos se filtró a través de una manta de cielo, por último se tituló con NaOH al 0.1 N utilizando como indicador fenolftaleína al 1% (Mani-López et al., 2014, NMX-F-511-1988.).

6.17.3 Determinación del % de sinéresis

Se midió 1 mL de la bebida láctea leche se colocó en un tubo cónico, se puso a centrifugar a 3000 g x 5 minutos, y por último se midió el sedimento y sobrenadante (Mani-López et al., 2014).

6.17.4 Evaluación de la viabilidad del microorganismo probiótico en las bebidas

Las muestras se obtuvieron de las bebidas que se mantenían almacenadas en refrigeración a 4 °C, se diluyeron en una solución reguladora de fosfato Sorensen. Las cepas probióticas se analizaron por recuento en placas por triplicado en agar MRS, se tomó 1 mL de la bebida más 9 mL de solución de PBS. La técnica utilizada fue en serie (-1 a -8) y se sembraron en agar MRS en cajas Petri. Se incubaron en un sistema de anaerobiosis a 37°C durante 48 horas. Los resultados obtenidos de la cuenta viable se expresan como Log UFC/mL (Ver figura 19).

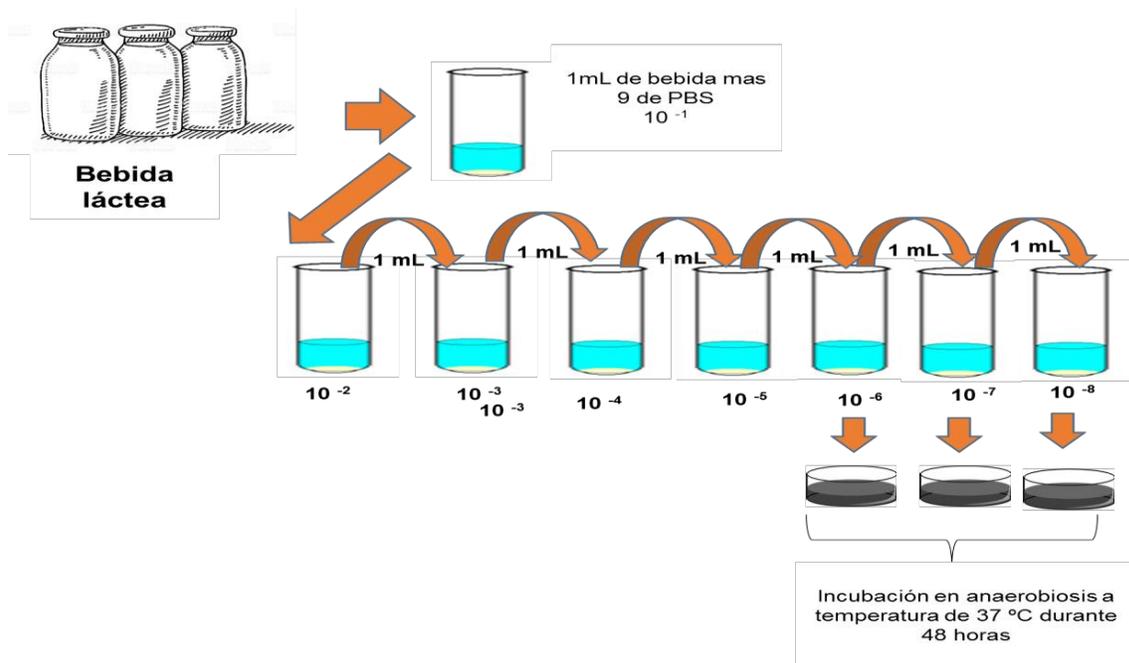


Figura 19. Diagrama de recuento en placa de la bacteria probiótica en la bebida láctea.

6.18 Prueba de aceptabilidad

Se realizó utilizando una escala hedónica no estructurada, de 0 a 9 (No me gusta- Me disgusta), tomando en cuenta los siguientes factores: olor, color, sabor, dulzor y aceptación). La prueba se realizó con alumnos y trabajadores del Instituto Tecnológico de Tuxtepec. (Kantachote et al., 2017).

6.20 Paquete estadístico

Los resultados obtenidos por triplicado, se analizaron mediante un Análisis de Varianza (ANDEVA) en Minitab versión 17 y una prueba de comparación de medias de Tukey $\alpha=0.05$.

RESULTADOS

7. RESULTADOS

7.1 Análisis fisicoquímico de la Pulpa de pitaya

7.1.1 Rendimiento de la fruta fresca de pitaya (*Stenocereus stellatus*).

Tabla 15. Rendimiento de las partes de la fruta fresca de pitaya (*Stenocereus stellatus*) con un estado de madurez de 10.5 °Bx.

Partes de la fruta	Rendimiento
Pulpa	81.046±1.10
Cascara	18.946±1.10
Total	99.99

En la tabla 15. se muestra el rendimiento de la fruta fresca de pitaya (*Stenocereus stellatus*) color purpura con un estado de madurez de 10.5 °Bx, el rendimiento obtenido fue de **81.046%** de pulpa, **18.946%** de cascara, estos valores son mayores a los reportados por **Ochoa-Velasco et al., 2012** quien obtuvo un rendimiento de pulpa de pitahaya (*Hylocereus spp.*) del **65%** y el **35%** de cascara, estas diferencias se pueden atribuir a que la cáscara de la pitaya *Stenocereus stellatus* es más delgada que la de la pitahaya *Hylocereus spp.*, por lo tanto tiene mayor porcentaje de pulpa. Los porcentajes de pulpa y cascara obtenidos en este análisis son similares a los que obtuvo **Campos-Montiel et al., 2011**, con un rendimiento en pulpa de pitaya *Stenocereus spp* coloración morada de **77.53%** y **22.22%** de cascara, la pitaya *Stenocereus s.* al presentar una cascara delgada puede ser más sensible a presentar agrietamientos y daños en poscosecha lo cual no podría ser de calidad para su comercialización en el mercado. Pero es un fruto con un alto contenido de pulpa la cual puede ser una alternativa de aprovechamiento para la elaboración de jugos, bebidas y néctares.

7.1.2. Caracterización fisicoquímica de la pulpa fresca de pitaya

Tabla 16. Análisis proximal y fisicoquímico de la pulpa fresca de pitaya (*Stenocereus stellatus*) color purpura.

Análisis	Valores	
	(b. h.)	(b. s.)
Humedad%	87.74±0.51	----
Cenizas%	0.46±0.04	3.79±0.04
Grasas %	0.28±0.34	2.32±0.34
Proteínas %	1.02±0.03	8.38±0.03
Carbohidratos %	10.48	85.54
Acidez titulable (% ácido cítrico)	0.419±0.05%	
pH	4.27±0.59%	
Azúcares reductores %	5.86±0.41%	
Sólidos solubles (°Brix)	10.5 ±0.70%	

Los resultados reportados son los promedios ± desviación estándar de muestras analizadas por triplicado ± desviación estándar ($p \leq 0.05$). *Se determinó por diferencia, **muestra liofilizada. b. h.=base húmeda y b. s.=base seca.

El cultivo de pitaya (*S. stellatus*) como ya se ha mencionado es de importancia económica en regiones del estado de Puebla, México, en el municipio de Totoltepec de Guerrero, Puebla se están explotando estos cultivos de *S. stellatus* en sus coloraciones amarilla, blanca, roja y púrpura, sin embargo de acuerdo a su sabor y aceptación es de mayor importancia la coloración roja y purpura, que se cosecha en los meses de Agosto, Septiembre y mediados del mes de Octubre, en esta investigación se utilizó la pitaya en su coloración púrpura cosechada en los meses de Agosto y Septiembre, en la tabla 16 se presentan los resultados del análisis proximal y fisicoquímico que tiene esta fruta , presentó **87.74%** de humedad, **0.46%** de cenizas, **0.28%** de grasa, **1.02%** de proteínas y **10.48%** de carbohidratos, valores similares a los reportados por **Pérez-Loredo et al., 2016** quien obtuvo valores en

pulpa de pitaya *Stenocereus stellatus* coloración purpura de humedad (**86.65%**), cenizas (**0.47%**), grasas (**0.39%**), proteínas (**1.30%**) y carbohidratos (**9.65%**). Al respecto **Campos-Montiel et al., 2011** reportan valores de proteína de **1.06%** y **10.75%** de carbohidratos en pulpa de pitaya morada *Stnocereus spp* los cuales también presentan una similitud al obtenido en este estudio. Dentro de las propiedades fisicoquímicas se encontró una acidez titulable de **0.419±0.05%** expresado como ácido cítrico estos valores resultaron inferiores a los obtenidos por **Pérez-Loredo et al., 2016**, quien reporto valores de acidez titulable de **0.50±0.09%** en pulpa de pitaya *Stenocereus stellatus* coloración morada y 0.48 % según lo reportado por **García et al., 2016**. Por otro lado se encontró un total de solidos solubles de 10.5 °Bx en la pulpa de pitaya (*S. stellatus*), valores muy similares a los encontrados por **Pérez-Loredo et al., 2016** quien obtuvo 9.60 °Bx y **García-Cruz et. al., 2016** obtuvo un rango de 9 a 11 °Bx, los sólidos solubles y acidez están relacionadas con la madurez de la fruta y el dulzor de la misma, por lo que pueden llegar a ser un índice de calidad. La relación sólidos solubles: acidez es un indicativo de buen sabor y aceptabilidad de la fruta, **Pérez-Loredo et.al., 2016** en su estudio encontró una relación de 12 a 20 lo que significó que la pitaya presentaba un sabor agri-dulce. **García-Cruz et al., 2016** encontró una relación entre 15.99 y 19.52 °Bx en la pitaya roja y blanca. En este estudio se encontró una relación sólido soluble:acidez de 25 lo que significa que la pitaya presentó mayor dulzor. El pH obtenido en este estudio fue de **4.27±0.59%**, superior al obtenido por **Pérez-Loredo et al., 2016**, quien reporto un valor de pH de **3.64±0.01** en pulpa coloración morada de la especie *Stenocereus stellatus*, esto se puede atribuir a que las muestras utilizadas por **Pérez-Loredo et al., 2016** presentaban menor grado de madurez, con una relación solidos solubles: acidez de 12 a 20 en comparación con la obtenida en esta investigación que fue de 25. Un buen balance entre pH, azucares y acidez titulable son necesarios para el sabor óptimo (**Pérez-Loredo et al., 2016**). La pitaya utilizada en esta investigación resultó ser rica en carbohidratos y proteínas y con un

indicativo de madurez óptimo para ser utilizada para el desarrollo de productos, dentro de los cuales se encuentran las bebidas fermentadas.

7.1.3 Análisis proximal del jugo de pitaya y jugo pasteurizado

Tabla 17. Resultados comparativos del análisis proximal del Jugo de pitaya (*S. stellatus*) obtenido utilizando dos tecnologías de extracción: convencional y ciclónica de batido (JC, JCB) y jugo endulzado pasteurizado.

Componentes	JC		JCB		Jugo endulzado	
	(b. h.)	(b. s.)	(b. h.)	(b. s.)	(b. h.)	(b. s.)
Humedad	86.90±0.12C	-----	90.97±0.08A	-----	89.01±0.12b	-----
Cenizas	0.42±0.05A	3.24±0.43b	0.42±0.05A	4.74±0.65a	0.34±0.01A	3.10±0.14b
Grasas	0.15±0.01C	1.16±0.09b	0.25±0.01B	2.83±0.16a	0.38±0.04A	3.48±0.47a
Proteínas	0.86±0.02A	6.63±0.113b	0.62±0.00B	6.95±0.03a	0.72±0.02C	6.60±0.15b
Carbohidratos	11.64±0.12A	88.96±0.38a	7.71±0.08C	85.46±0.50c	9.53±0.14B	87.13±0.75b

JC= Jugo extraído por tecnología convencional, JCB= Jugo extraído por tecnología ciclónica de batido, Jugo endulzado .Los resultados reportados son los promedios ± desviación estándar de muestras analizadas por triplicado. b. h.=base húmeda y b. s.=base seca. b.h=letras mayúsculas, b.s.= letras minúsculas. Medias con letras iguales en una fila no son estadísticamente diferentes.

En la tabla 17, se enlistan los resultados comparativos del análisis proximal del jugo, batido y jugo endulzado (*S. stellatus*). Definiéndose el zumo o jugo de frutas como un líquido sin fermentar, pero fermentable, que se obtiene de la parte comestible de frutas en buen estado, debidamente maduras o frescas que se han mantenido en buen estado por procedimientos adecuados inclusive por tratamientos de superficie aplicados después de la cosecha (CODEX STAN 247-2005, NOM-173-SCFI-2009).Se encontró diferencia significativa en cuanto humedad en las tres muestras teniendo mayor contenido jugo extraído con tecnología ciclónica (90.97%) y menor contenido el jugo con tecnología convencional (86.90%). Para el jugo de pitaya se puede atribuir que al utilizar una tecnología convencional de extracción de jugo presiona y filtra la pulpa lo cual permite la pérdida de materia prima, en cuanto la tecnología ciclónica pulveriza toda la pulpa y no permite la pérdida de sus constituyentes por lo que el contenido de humedad del jugo endulzado al someterlo a un proceso térmico como la pasteurización hay pérdida de líquidos.

En el jugo (3.24%) el contenido de cenizas en base seca tuvo menor contenido con respecto al jugo extraído con tecnología ciclónica (4.74%). **ADOU et al., 2012**, reporto valores de cenizas de 1.3 a 1.88% en materia seca de jugo de manzana los cuales son inferiores a los obtenidos en el jugo de pitaya con tecnología convencional 3.24%, la diferencia de resultados podría ser a que son dos tipos de frutas diferentes. En grasas se obtuvo una disminución en el jugo 1.16% esto se puede deber que al filtrar el jugo extraído con tecnología convencional se retiran totalmente las semilla, para jugo extraído con tecnología ciclónica fue superior 2.83% se atribuye que utilizando una tecnología ciclónica de batido pulveriza las semillas que se encuentran en la pulpa liberando ácidos grasos.

La proteína en base seca disminuye ligeramente en el jugo endulzado **6.60%**, en relación con el jugo de pitaya extraído con una tecnología convencional de batido **6.95%**, y jugo de pitaya extraído con una tecnología convencional **6.63%**. **Tanwar et al., 2014**, menciona que las proteínas sufren una desnaturalización o degradación durante el tratamiento reduciendo su contenido. Para el total de carbohidratos hay un aumento en el jugo endulzado de 86.49 %, con respecto al que se obtuvo en el jugo con tecnología ciclónica de batido de **85.49%**. **Tanwar et al., 2014** menciona que el agregar azúcar en el néctar aumenta el valor de carbohidratos y su valor calórico.

7.2 Evaluación de la viabilidad y cambios de pH en bebidas agua-jugo de pitaya y adición de dos concentraciones de *L. plantarum*

7.2.1 Viabilidad y cambios de pH en bebida agua-jugo de pitaya a concentración del 0.5% de *L. plantarum*

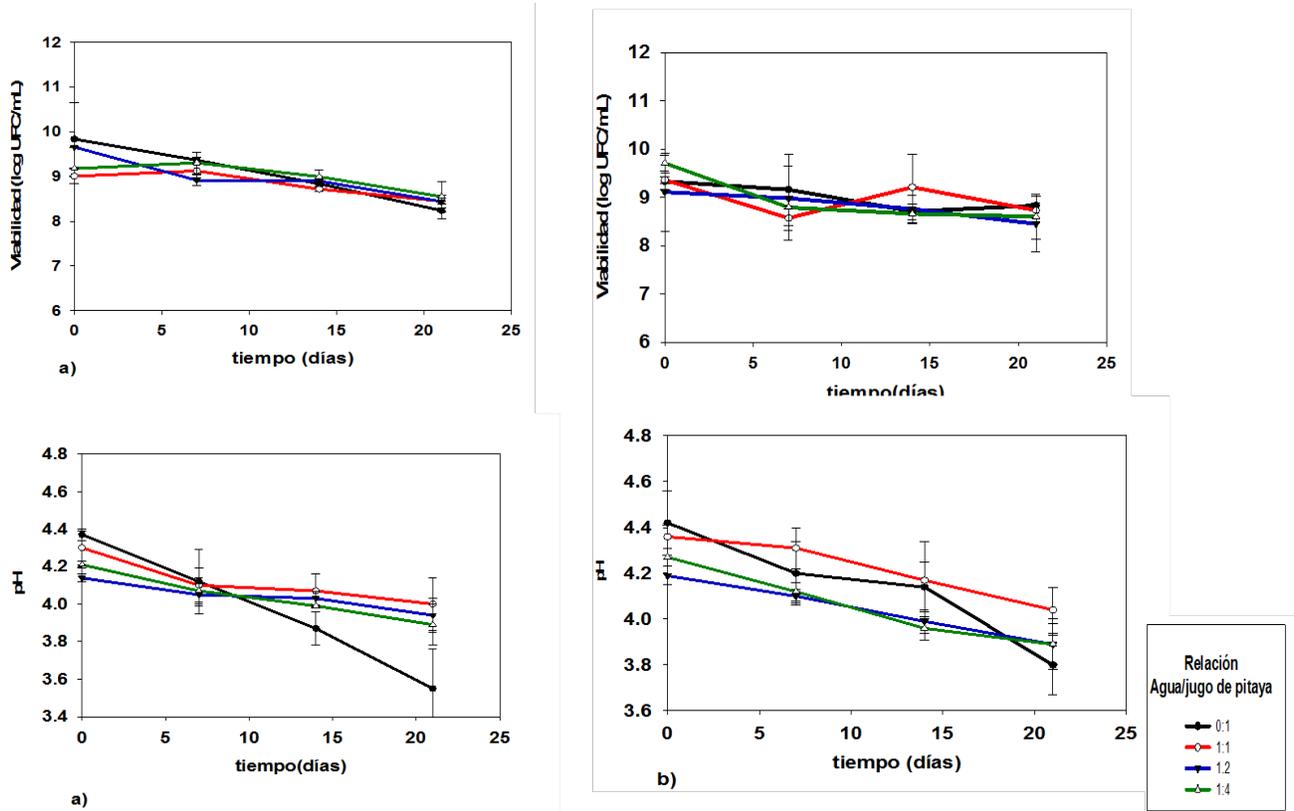


Figura 20. Cuenta viable (log UFC/mL) y cambios de pH del *L. plantarum* a concentración de 0.5% en una bebida de pitaya durante 21 días de almacenamiento a 4°C. a) Con estevia y sucralosa, b) Sin estevia y sucralosa.

Las cuentas viables (log UFC/mL) y cambios de pH de *Lactobacillus plantarum* a concentración del 0.5 % en la bebida de pitaya en una relación agua/ jugo de pitaya durante un periodo de almacenamiento de 21 días a 4 °C, se presentan en la **figura 20**. Para que los probióticos sobrevivan las condiciones desfavorables dentro del tracto gastrointestinal y llegar al intestino en condiciones adecuadas, la cantidad de

bacterias disponibles inicialmente debería de ser de 7 log UFC/mL en el periodo final de vida útil de los alimentos (**Bagher et al., 2017**). La cuenta inicial en la bebida de pitaya (con y sin estevia/sucralosa) fue de 9 a 10 log UFC/mL con un pH de 4.2-4.4 el cual se relaciona con pH de la pulpa de pitaya que fue de 4.27. Sin embargo alcanzó una reducción de células viables en todos los tratamientos de la bebida, para el control (0:1 relación agua/pitaya) de 1.6 y 0.5 ciclos logaritmos en bebidas con y sin estevia y sucralosa, la disminución de < 0.7 ciclo logaritmos se encontró en el tratamientos (1:1, 1:4 con estevia y sucralosa, 1:1, 1.2 sin estevia y sucralosa), en tanto los tratamientos 1:2 con edulcorante y 1:4 sin edulcorante su descenso de células viables fue <1.5 ciclos logaritmos. La pérdida de viabilidad está relacionada con la acidez en la bebida de pitaya, la presencia de oxígeno en los medios o el bajo nivel de compuestos nitrogenados, cuando las células probióticas están presentes en entornos de pH bajo (<4.5), se requiere una mayor energía para mantener el pH intracelular, lo que resulta en la falta de ATP para otras funciones críticas y por lo tanto causa la muerte celular, **Colombo et al., 2015**. El descenso de pH que se presentó en la bebida de pitaya a partir del día 7 en bebidas con y sin estevia/sucralosa finalizando en la última semana de almacenamiento con un pH <4 respectivamente. Sin embargo *L. plantarum* mantuvo una viabilidad de 83-94% hasta los 21 días de almacenamiento. **Bagher et al., 2017** encontró una cuenta de células viables de 7 log UFC/mL en jugo de limón dulce después de 28 días de almacenamiento. **Nematollahi et al., 2016**, obtuvo un número de células viables iniciales de 8 log UFC/mL en jugo de cornelian cherry pero en el día 7 de almacenamiento desciende a 4.20 log UFC/mL con un pH ajustado a 3.5. En esta investigación *L. plantarum* tuvo una cuenta viable por encima de 8 log UFC/mL hasta el 21 día de almacenamiento en la bebida de pitaya y de acuerdo a las investigaciones antes mencionadas tuvo mejor vida útil, por lo tanto la pitaya podría ser un sustrato de crecimiento para este probiótico.

7.2.2 Viabilidad y cambios de pH en bebida agua-jugo de pitaya a concentración del 0.2 5% de *L. plantarum*

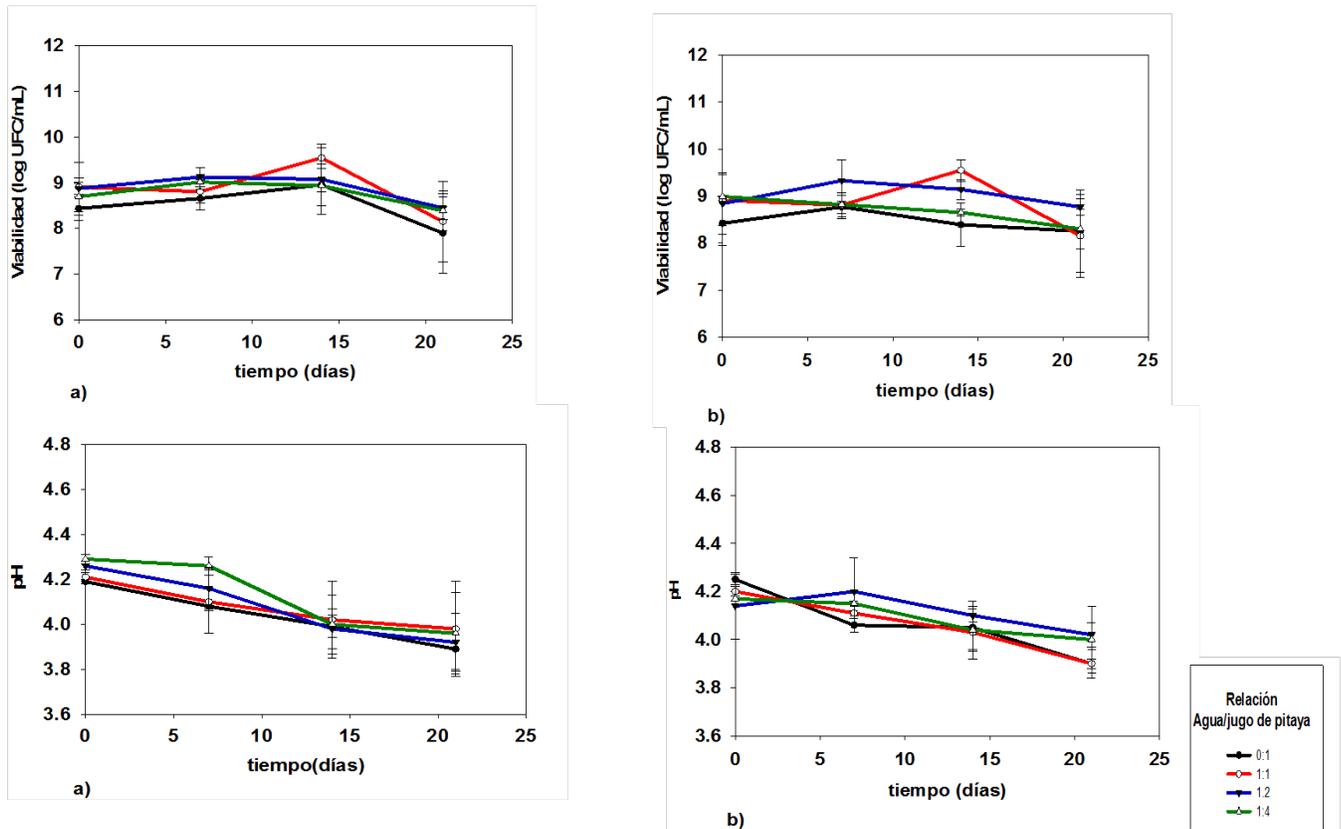


Figura 21. Cuenta viable y cambios de pH del *L. plantarum* a concentración del 0.25% en una bebida de pitaya durante 21 días de almacenamiento a 4°C. a) Con estevia /sucralosa, b) Sin estevia /sucralosa.

La evolución de la concentración de células y cambios de pH a concentración del 0.25% de *L. plantarum* durante 21 días de almacenamiento a 4 °C de la bebida de pitaya se presenta en la figura 22. El inicio de la cuenta viable en la bebida agua/jugo de pitaya fue de 8-9 log UFC/mL a un pH de 4.2-4.3. La concentración de células disminuye en todos los tratamientos de la bebida a los 21 días de almacenamiento. Para el control (0:1 agua/pitaya) alcanzo un descenso < 0.2 y <0.6 ciclos logaritmos para bebidas con y sin estevia/sucralosa, <0.8 ciclos logaritmos en

tratamientos 1:2 con y 1:1 sin estevia y sucralosa, <0.5 y <0.7 ciclos logaritmos en el tratamiento 1:4 con y sin estevia/sucralosa, <0.07 ciclos logaritmos en el tratamiento 1:2 sin estevia y sucralosa respectivamente. La disminución de células viables en la bebida de pitaya podría estar relacionada con el descenso de pH debido al incremento de ácido láctico durante el almacenamiento en refrigeración producto mismo del metabolismo de la bacteria ácido láctica. Se observó claramente la caída del pH en todas las muestras desde el día 7 hasta el 21 día de almacenamiento, sin embargo en tratamiento control (0:1 agua/pitaya) mostro mayor disminución de pH en el 21 día de almacenamiento, el sustrato era solo el jugo de pitaya podría estar relacionada con el incremento de ácidos orgánicos presentes en la pulpa de pitaya. A pesar de la pérdida de células viables al final del periodo de almacenamiento, los recuentos de células viables de *L. plantarum* en la bebida de pitaya fueron superiores a los 8 log UFC/mL. **Pereira et al., 2011** elaboro un jugo de manzana *anacardium occidentale* con *L. casei* NRRL B-442 almacenado durante 42 días en refrigeración a 4 °C, las células viables iniciales fueron de 8.41 log UFC/mL pero en el día 21 de almacenamiento incremento a 8.72 log UFC/mL y en el día 35 hubo una ligera reducción, teniendo un pH inicial de 4.28 el disminuyendo a 3.72 a los 42 días de almacenamiento, nuestros resultados se relacionan con esta investigación porque la viabilidad de *L. plantarum* sufre pérdida de células al disminuir el pH. **Nualkaekul et al., 2011** estudiaron la supervivencia de *L. plantarum* en 17 zumos de frutas en relación con el pH del durante seis semanas de almacenamiento, encontrando que las células de *L. plantarum* sobreviven aun pH 3.8 en jugos de piña, naranja y grosella negra relacionándolo con el pH obtenido en las diferentes bebidas de pitaya al 21 de almacenamiento hay similitud.

7.3 Evaluación de la viabilidad y cambios de pitaya en bebidas con leche-jugo de pitaya y adición de *L. plantarum* a una sola concentración

7.3.1 Viabilidad y cambios de pH en bebida láctea leche-jugo de pitaya

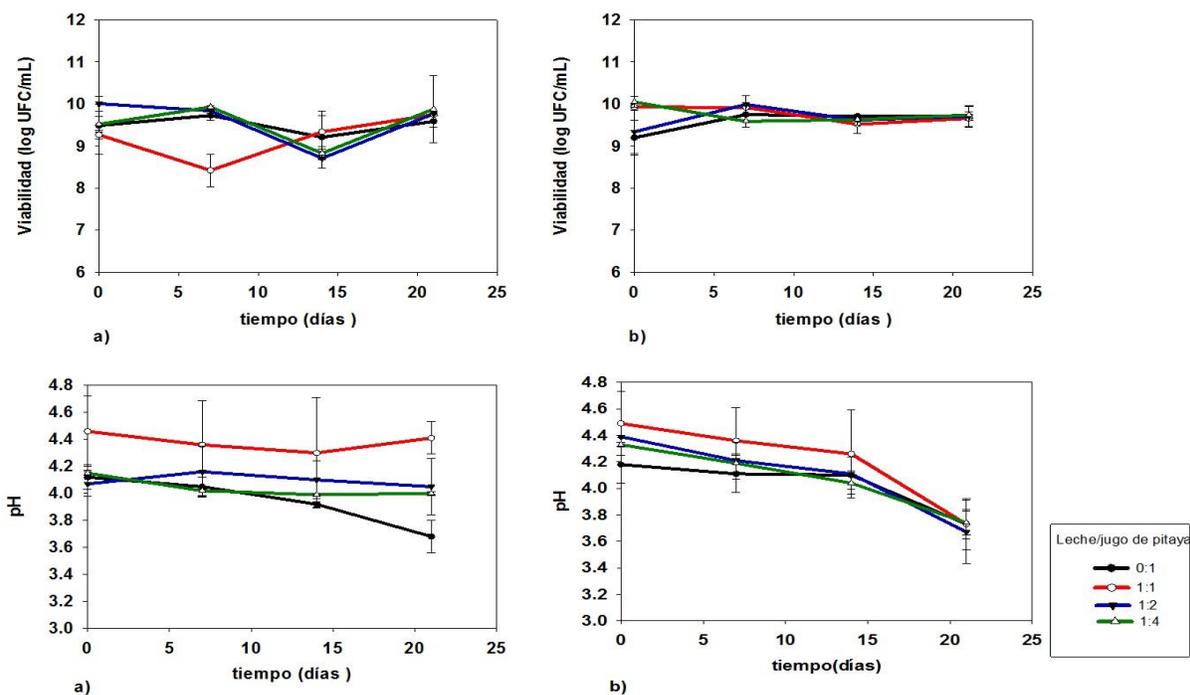


Figura 22. Figura 3. Cuenta viable y cambios de pH en una bebida láctea de pitaya elaborada con *L. plantarum* a concentración de 0.25% durante 21 días de almacenamiento a 4°C. a) Con estevia /sucralosa, b) Sin estevia /sucralosa.

Los conteos viables (log UFC/mL) de *L. plantarum* y cambios de pH a diferentes formulaciones de la bebida láctea durante 21 días de almacenamiento a 4°C se muestran en la **figura 23**. En la bebida láctea con estevia/sucralosa tuvo una cuenta viable inicial de 9 y 10 log UFC/mL de igual manera se mostró esta tendencia en bebidas sin estevia/sucralosa. La cuenta de células de *L. plantarum* mostraron diferencia significativa entre los tratamientos en bebidas con estevia/sucralosa en los días 7 y 14 de almacenamiento, con respecto a los días de almacenamiento no presento diferencia significativa pero si un ligero incremento de células de *L.*

plantarum en el día 21 de almacenamiento con un incremento >0.5 log UFC/mL en las relaciones 1:1 y 1:4 de leche/néctar de pitaya con respecto a 1:2 tiene un descenso <0.15 pero la cuenta de células viables es mayor a 1:1. Por otro lado en bebidas sin estevia/sucralosa se logró un incremento >0.3 log UFC/mL en la relación 1:1, 1:2 leche/ néctar de pitaya y una disminución <0.4 log UFC/mL en 1:4 leche/néctar de pitaya. Los resultados mostraron al día 21 de almacenamiento una viabilidad de *L. plantarum* en la bebida láctea con néctar de pitaya de 90-100% tanto con estevia/sucralosa y sin estevia/sucralosa así como también una cuenta viable >9 log UFC/mL. **Daneshi et al., 2013** reporta que los ácidos orgánicos y su acumulación tienen un impacto negativo en la supervivencia del probiótico los cuales se pueden encontrar presentes en la pulpa de pitaya. El pH inicial de las bebidas con estevia/sucralosa >4 y en sin estevia/sucralosa >4.1 , disminuyendo con una acidez >3 en bebidas sin estevia/ sucralosa en relaciones 1:1 y 1:4 esto se podría deberse a que estas relaciones tienen mayor concentraciones de jugo pitaya. **Daneshi et al. 2013** reporto una viabilidad del 88 % de *L. plantarum* en una bebida no fermentada con leche y jugo de zanahoria almacenada durante 20 días de almacenamiento a 4 °C manteniendo un pH estable de 6.5. En este estudio se obtuvo una viabilidad $>90\%$ y una supervivencia a un pH <4 , de acuerdo a la investigación antes mencionada *L. plantarum* tuvo una supervivencia a pH bajo lo cual los hace adaptable a sustratos ácidos como lo es la pulpa de pitaya. A corde a **Pereira de Souza et al., 2013** reporto valores de 8.92 log UFC/mL después de 70 días de almacenamiento en una leche fermentada a un pH de 4.05 resultados similares a los obtenidos en este investigación con una cuenta viable de 9 log UFC/ mL y un pH de 3.7 y 4 mostrados a los 21 días de almacenamiento en una bebida láctea relación leche/jugo de pitaya.

7.3.2. Porcentaje de ácido láctico de la bebida láctea leche-jugo de pitaya.

Tabla 18. Acidez titulable (% de ácido láctico) de la bebida láctea leche/néctar de pitaya durante la viabilidad de *L. plantarum* con una concentración de 0.25% durante 21 días.

Relación leche-néctar	día 0	día 7	día 14	día 21
con stevia/sucralosa (5:1)				
0:1	0.27±0.007Aa	0.44±0.04Aa	0.36±0.007Aa	0.44±0.02Ab
1:1	0.24±0.01Aa	0.38±0.03Aa	0.30±0.12Aa	0.41±0.02Aa
1:2	0.31±0.01Aa	0.36±0.03Aa	0.34±0.15Aa	0.41±0.06Aa
1:4	0.32±0.02Ba	0.31±0.06Aa	0.344±0.09Aa	0.38±0.03Aa
sin stevia/sucralosa (5:1)				
0:1	0.20±0.06Aa	0.26±0.13Aa	0.29±0.11Aa	0.37±0.15Aa
1:1	0.20±0.03Aa	0.23±0.04Aa	0.28±0.10Aa	0.36±0.10Aa
1:2	0.22±0.06Aa	0.28±0.10Aa	0.34±0.09Aa	0.36±0.06Aa
1:4	0.23±0.07Aa	0.28±0.14Aa	0.34±0.16Aa	0.36±0.12Aa

Las letras mayúsculas son la diferencia significativa ($P < 0.05$) entre los tratamientos.

Las letras minúsculas son la diferencia significativa ($P < 0.05$) entre los días de almacenamiento

Los resultados reportados son los promedios ± desviación estándar de los triplicados

Los resultados de acidez titulable (% ácido láctico) en la bebida láctea leche/ jugo de pitaya durante la viabilidad de *L. plantarum* a concentración del 0.25% durante el almacenamiento de 21 días a 4 °C se muestran en la **tabla 7**. Los valores iniciales de acidez titulable fueron de 0.24-0.31 % de ácido láctico en bebidas con estevia/sucralosa y 0.20-0.23 sin estevia/ sucralosa, conforme pasaba el tiempo de almacenamiento el incrementa el % de ácido láctico, no se presentó diferencia significativa en los días 7 y 14 de almacenamiento, pero en el día 21 de almacenamiento se observó un incremento del % ácido láctico, Estos resultados se pueden relacionar a las diferentes concentraciones de jugo de pitaya, de tal manera se encontró una relación entre la acidez y el pH debido a que si disminuye el pH incrementa la acidez, **Mani-López et al., 2014** reporto que los cambios de acidez se pueden atribuir a la actividad residual de las bacterias ácido lácticas.

7.4. Evaluación de la viabilidad y cambios de pH en bebida láctea con leche-jugo de pitaya diferentes proporciones enriquecida con proteína vegetal.

7.4.1. Viabilidad y cambios de pH de la bebida láctea 1:2 leche-jugo de pitaya enriquecida con proteína vegetal

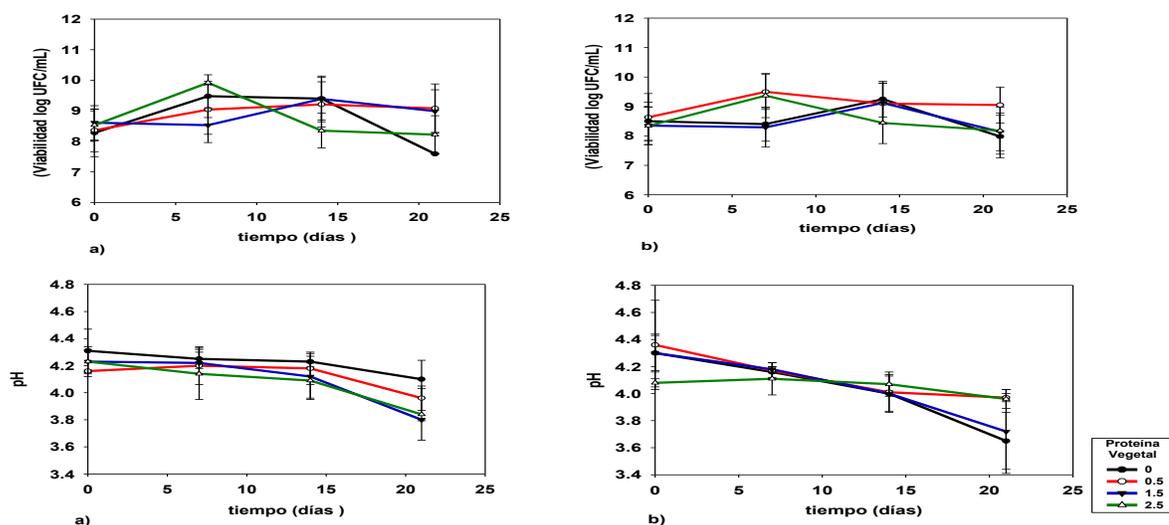


Figura 23. Cuenta viable y cambios de pH en una bebida láctea de pitaya elaborada con *L. plantarum* a concentración de 0.25% y proteína vegetal en una relación 1:2 durante 21 días de almacenamiento a 4°C. a) Con estevia /sucralosa, b) Sin estevia /sucralosa.

Las cuentas viables (log ufc/mL) y cambios de pH de *Lactobacillus plantarum* en la bebida láctea 1:2 relación leche/jugo de pitaya adicionada con proteína vegetal durante un periodo de almacenamiento de 21 días a 4°C, se presentan en la **figura 23**. *Lactobacillus plantarum* inicio con una cuenta inicial de 8 a 9 log UFC/mL alcanzando una reducción de <0.7 log ufc/mL en el número de células viables para el tratamiento control (sin proteína vegetal). Un incremento >0.7 y > 0.3 log UFC/mL se encontró en las bebidas que contenía 0.5 y 1.5 g/L de aislado proteínico lográndose una viabilidad de > 100% respectivamente, sin embargo para el

tratamiento que contenía 2.5 g/L de proteína vegetal de aislado proteínico se observó reducción del número de células y se logró una viabilidad del 96% esto se podría atribuir a una saturación de proteínas durante el almacenamiento de la bebida. La cepa probiótica de *L. plantarum* se mantuvo viable por encima de los 8 log UFC/mL en la bebida láctea con jugo de pitaya y proteína vegetal en el día 21 de almacenamiento. En las bebidas sin estevia y sucralosa el incremento de células fue en la bebida que contenía 0.5 g/L de proteína vegetal con una viabilidad > 100%. Los resultados mostraron que la viabilidad de *Lactobacillus plantarum* en la bebida láctea con jugo de pitaya y proteína vegetal con estevia/sucralosa y sin estevia/sucralosa es relativamente alta durante su conservación en refrigeración durante tres semanas. Con base a investigaciones ya existentes y desde el punto de vista de la salud, es de gran importancia que las cepas probióticas conserven su viabilidad y actividad funcional durante el almacenamiento. En esta investigación los recuentos viables de *L. plantarum* en las bebidas lácteas con jugo de pitaya, proteína vegetal con y sin estevia /sucralosa variaron 8-9 log UFC/mL después de los 21 días de almacenamiento en refrigeración a 4°C. **Moayednia et al., 2009**, informa que recuento de células viables de *L. acidophilus* en una leche fermentada disminuyen en el día 7 y 14 pero aumentan en el día 21 de almacenamiento mencionando que este comportamiento se puede atribuir a la propiedad proteolítica propia de los *Lactobacillus* esto se podría relacionar con la bebidas que incrementaron el número de células en el día 21 La disminución de pH que se presentó en las bebidas se podría atribuir a una actividad residual del microorganismo probiótico. Durante el almacenamiento las muestras control (0 g/L de proteína vegetal) a 4°C, no mostraron cambios en la en la primera semana pero disminuyeron de 4.10 a 3.65 a la cuarta semana. Otra disminución fue en la bebida láctea con estevia/sucralosa en la concentración con 2.5 g/L de proteína vegetal descendió con pH de 0.43 al 21 día de almacenamiento.

7.4.2. Porcentaje de ácido láctico de la bebida láctea 1:2 leche-jugo de pitaya enriquecida con proteína vegetal

Tabla 19. Acidez titulable (% de ácido láctico) de la bebida láctea leche/jugo de pitaya 1:2 v/v durante la viabilidad de *L. plantarum* con una concentración del 0.25% y proteína vegetal durante un periodo de almacenamiento de 21 días a 4°C.

Aislado proteínico	día 0	día 7	día 14	día 21
con estevia/sucralosa (5:1)				
0	0.36±0.03Aab	0.25±0.03Ab	0.31±0.04Aab	0.44±0.04Aa
0.5	0.30±0.02ABa	0.26±0.04Aa	0.26±0.02Aa	0.35±0.02Aa
1.5	0.24±0.01Bb	0.25±0.02Ab	0.27±0.007Ab	0.36±0.007Aa
2.5	0.22±0.01Bb	0.24±0.01Ab	0.28±0.02Ab	0.40±0.01Aa
sin estevia/sucralosa (5:1)				
0	0.20±0.01Bc	0.30±0.02Abc	0.39±0.04Aab	0.47±0.01Ab
0.5	0.38±0.01ABa	0.24±0.01Ab	0.38±0.01Aa	0.46±0.04Ab
1.5	0.32±0.05Aab	0.23±0.02Ab	0.41±0.05Aab	0.48±0.02Aa
2.5	0.35±0.01Ab	0.25±0.02Ac	0.37±0.02Ab	0.46±0.02Aa

Las letras mayúsculas son la diferencia significativa ($P < 0.05$) entre los tratamientos.
 Las letras minúsculas son la diferencia significativa ($P < 0.05$) entre los días de almacenamiento.
 Los resultados reportados son los promedios ± desviación estándar de los triplicados.

La **tabla 18** presenta la tendencia de acidez titulable de la bebida láctea 1:2 leche/jugo de pitaya y proteína vegetal con y sin estevia/sucralosa durante un periodo refrigerado de almacenamiento de 21 días a intervalos de 7 días. Los valores iniciales de acidez titulable en bebidas con estevia/sucralosa con concentraciones de proteína vegetal (0.22 a 0.30%) variaron después de los días de almacenamiento (0.35 a 0.40%) y en sin estevia y sucralosa con concentraciones

de proteína se mostró la misma tendencia (0.32 - 0.38% de 0.46-0.48 %). El mayor % de ácido láctico fueron encontrados en la bebida sin estevia/sucralosa correspondió a las concentraciones 0.5, 2.5 g/L de proteína vegetal durante el periodo de almacenamiento de 21 días a 4 °C. Puede decirse que las bebidas lácteas antes mencionadas se sometieron a una post acidificación durante este tiempo. La post acidificación se podría deber a la retención de actividad de β -galactosidasa por células no viables y la estabilidad de la enzima en el almacenamiento refrigerado (Moayednia et al., 2009).

7.4.3. Porcentaje de sinéresis de la bebida láctea 1:2 leche-jugo de pitaya enriquecida con proteína vegetal

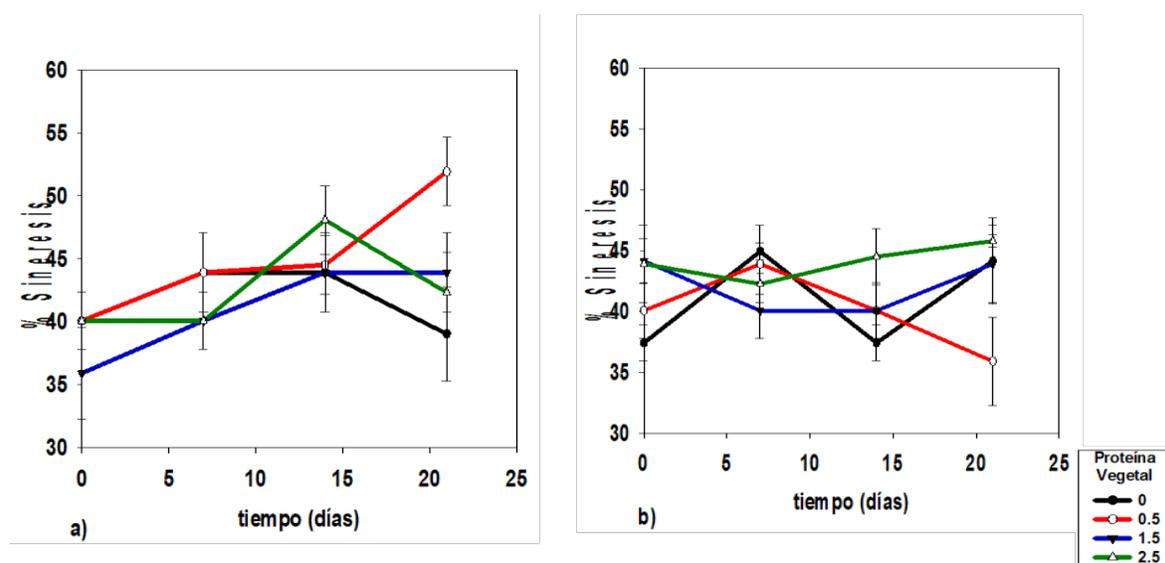


Figura 24. Cambios de sinéresis (%) en una bebida láctea de pitaya elaborada con *L. plantarum* a concentración de 0.25% y proteína vegetal en una 1:2 relación durante 21 días de almacenamiento a 4°C. a) Con estevia /sucralosa, b) Sin estevia /sucralosa.

La sinéresis es la separación de la fase líquida de un gel es una característica indeseable para cualquier producto. La sinéresis debe ser espontánea y debe ocurrir solo cuando el gel es interrumpido por un corte mecánico, agitación, o siendo sujeta a una fuerza de centrifugación (**Mani-López et al., 2014**). En la **figura 24** se muestra la tendencia para sinéresis en el estudio de una bebida láctea en una relación 1:2leche/jugo de pitaya con proteína vegetal a concentración del 0.25% de *L. plantarum* en almacenamiento de 21 días. Los valores del % de sinéresis para la bebida láctea con estevia/sucralosa en la concentración 0.5 g/L de proteína vegetal fue >50%, con respecto a las demás concentraciones (1.5 y 2.5 g/L de proteína vegetal) fueron < 45%, de igual manera en la bebida sin estevia/sucralosa la concentración 0.5 g/L de proteína vegetal presento menor % de sinéresis en relación a 1.5 y 2.5 g/L de proteína estuvo <46%, los resultados antes mencionados son el incremento del % sinéresis reflejado en la bebida láctea en el día 21 de almacenamiento respectivamente. La sinéresis está directamente relacionada con la acidez al incrementar la acidez, aumenta la cantidad de sinéresis (**Daneshi et al., 2013**

7.4.4 Viabilidad y cambios de pH de la bebida láctea 1:4 leche-jugo de pitaya enriquecida con proteína vegetal

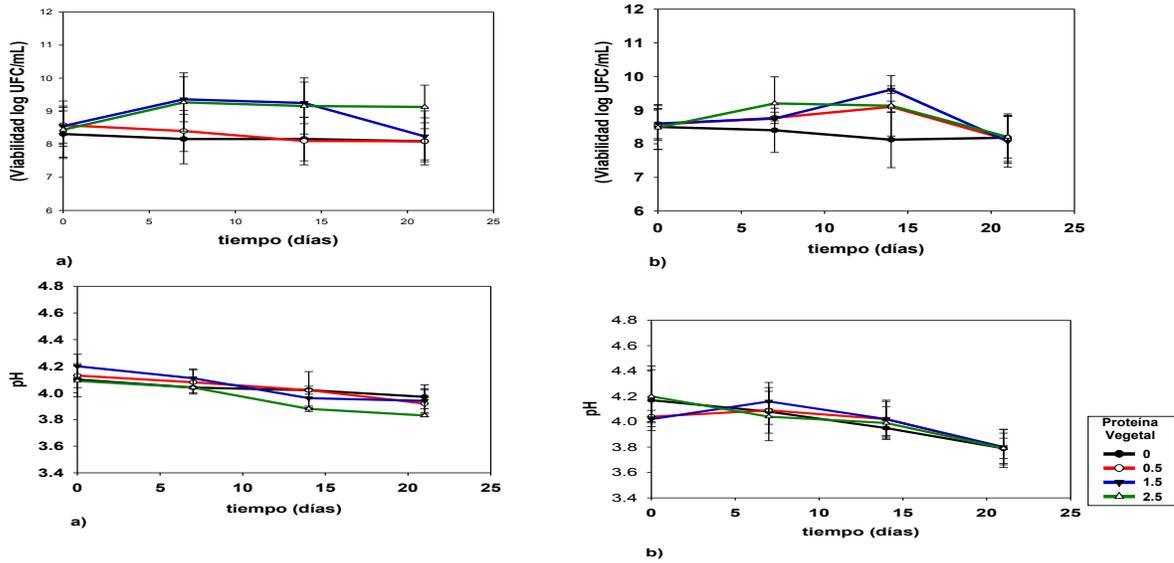


Figura 25. . Cuenta viable y cambios de pH en una bebida láctea de pitaya elaborada con *L. plantarum* a concentración de 0.25% y proteína vegetal en una 1:4 relación durante 21 días de almacenamiento a 4°C. a) Con estevia /sucralosa, b) Sin estevia /sucralosa.

Acorde a la **figura 26** se observa la cuenta viable (log UFC/mL) y cambios de pH de *Lactobacillus plantarum* observado en una bebida láctea 1:4 relación leche/jugo de pitaya enriquecida con proteína vegetal durante de periodo de almacenamiento de 21 días a 4°C. Se obtuvo una disminución de <0.4 log UFC/mL en la cuenta de células viables para el tratamiento control (0 g/L de proteína) al día 21 de almacenamiento. Una tendencia de disminución de células viable se mostró en bebidas con y sin estevia/sucralosa, <0.5 log UFC/mL para 0.5 de proteína (con y sin estevia/sucralosa), <0.4 log UFC/mL respecto a 1.5 de proteína (con estevia/sucralosa), <0.3 y <0.6 log UFC/mL en, 2.5 y 1.5 de proteína (sin estevia/sucralosa). Sin embargo para el tratamiento 2.5 g/L de proteína (con estevia/sucralosa) se logró una viabilidad del 100%. El efecto de la disminución de la cuenta viable podría estar relacionado con el incremento ácidos orgánicos (ácido láctico, ácido cítrico) producidos por *Lactobacillus plantarum* y la pulpa de pitaya. *Lactobacillus plantarum* logro una cuenta de células viables 8-9 log UFC/mL en la bebida láctea a los 21 días de almacenamiento en refrigeración a 4°C. Debido a que *L. plantarum* metaboliza a los carbohidratos (lactosa y fructuosa) como fuente de energía una vez agotada es capaz de aprovechar otros nutrientes como grasas y proteínas presentes en el medio, por lo que la proteína vegetal fue utilizada como un sustento de alimento durante el almacenamiento de la bebida, **Agudelo et al., 2010. Moayednia et al., 2009** reportan que al incrementar los ácidos orgánicos (ácido láctico, ácido acético) producidos por *Lactobacillus acidophilus* y *B. Lactis* en leche fermentadas disminuyen la reducen la viabilidad la cepa de *Lactobacillus* durante 21 días de almacenamiento de almacenamiento en refrigeración. Eventualmente el pH disminuye en el día 21 de almacenamiento en la bebida láctea. Alcanzando una disminución de >0.40 del pH en el tratamiento control (sin proteína vegetal). Una reducción de > 0.30 se encontró en muestras tanto como 0.5, 1.5 y 2.5 g/L de proteína vegetal (bebidas con y sin estevia/sucralosa). Sin embargo en la muestra 2.5 g/L (bebida sin estevia/sucralosa) la disminución fue > 0.45 fue más

evidente en la última semana de almacenamiento en relación a las muestras antes mencionadas. La disminución del pH puede deberse al incremento del ácido láctico durante la fermentación de la bebida. Se relaciona con el desdoblamiento de los azúcares que producen los microorganismos en ácido láctico **Marín et al., 2009**.

7.4.5. % de ácido láctico de la bebida láctea 1:4 leche-jugo de pitaya enriquecida con proteína vegetal

Tabla 20. Acidez titulable (% de ácido láctico) de la bebida láctea leche/jugo de pitaya 1:4 v/v durante la viabilidad de *L. plantarum* con una concentración del 0.25% y proteína vegetal durante periodo de almacenamiento de 21 días a 4°C.

Aislado proteínico.	día 0	día 7	día 14	día 21
con estevia/sucralosa (5:1)				
0	0.29±0.01Ac	0.28±0.02Ac	0.36±0.007Ab	0.46±0.02Aa
0.5	0.27±0.007ABb	0.34±0.06Aab	0.39±0.02Aab	0.47±0.01Aa
1.5	0.24±0.01Bc	0.26±0.01Abc	0.34±0.02Ab	0.44±0.02Aa
2.5	0.27±0.007ABbc	0.24±0.01Ac	0.37±0.04Aab	0.48±0.02Aa
sin estevia/sucralosa (5:1)				
0	0.35±0.04Ab	0.27±0.007Ab	0.37±0.02Ab	0.50±0.02Aa
0.5	0.30±0.04Ab	0.32±0.02Ab	0.39±0.02Ab	0.45±0.007Aa
1.5	0.29±0.09Aa	0.26±0.01Aa	0.42±0.04Aa	0.45±0.03Aa
2.5	0.30±0.02Ab	0.27±0.007Ab	0.42±0.07Aab	0.49±0.02Aa

Las letras mayúsculas son la diferencia significativa ($P < 0.05$) entre los tratamientos.

Las letras minúsculas son la diferencia significativa ($P < 0.05$) entre los días de almacenamiento.

Los resultados reportados son los promedios ± desviación estándar de los triplicados.

En la **tabla 19** se muestra el comportamiento del % de ácido láctico obtenido en una bebida láctea 1:4 relación leche/néctar de pitaya con una concentración del 0.25% de *L.plantarum* enriquecida con proteína vegetal, con y sin estevia y sucralosa almacenada durante 21 días a 4°C, cuando se le agregan los edulcorantes como lo fue la estevia/ sucralosa en el primer día de almacenamiento (día 0) se obtuvieron valores de 0.24-0.27 % de ácido láctico aumentando durante el tiempo de almacenamiento obteniendo valores finales de 0.46-0.48% de ácido láctico, en cuanto no se le agrega estevia y sucralosa hay mayor contenido del % de ácido láctico en el día 0 de almacenamiento de 0.29-0.30% de ácido láctico y en el día 21 se obtuvo un rango final de 0.45- 0.50% de ácido láctico entre los tratamientos estudiados. Sin embargo el tratamiento con 2.5 g/L de proteína vegetal tiene mayor contenido de ácido láctico. El incremento de la acidez se puede deber al desdoblamiento que producen los microorganismos de los azúcares en ácido láctico **Marín et al., 2009.**

7.4.6. % de sinéresis de la bebida láctea 1:4 leche-jugo de pitaya enriquecida con proteína vegetal

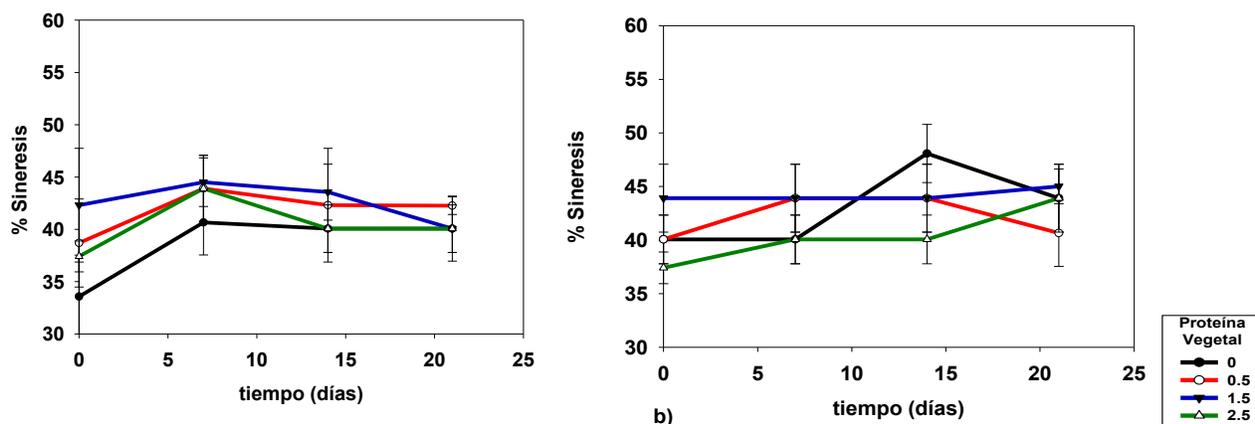


Figura 26. Cambios de sinéresis (%) en una bebida láctea de pitaya elaborada con *L. plantarum* a concentración de 0.25% y proteína vegetal en una relación 1:4 (leche/jugo) durante 21 días de almacenamiento a 4°C. a) Con estevia /sucralosa, b) Sin estevia/sucralosa.

En la **figura 26** se muestra la tendencia del % de sinéresis en una bebida láctea 1:4 relación leche/jugo de pitaya a una concentración del 0.25% de *L. plantarum* con y sin estevia y sucralosa estudiando tres diferentes concentraciones de proteína vegetal (0.5, 1.5, 2.5 g/L de proteína vegetal) almacenada en un periodo de 21 días. Cuando se agrega estevia y sucralosa se tuvo un % de sinéresis inicial en el día 0 de 37.42-42.31% y un porcentaje final en el día 21 de 40.06-42.26% entre los tratamientos de proteína vegetal, no se presentó diferencia significativa con respecto al tiempo en que estuvieron almacenadas en refrigeración ni entre los tratamientos, pero en las bebidas que contenía 0.5 g/L de proteína vegetal fue el que presento un elevado % de sinéresis esto se puede atribuir que fue el que presento menor acidez en el último día de almacenamiento. En las bebidas que no contenían estevia y sucralosa se mostró la misma similitud en el % de sinéresis durante obteniendo valores finales de 40.66-45.01 % de sinéresis en la bebidas. **Casarotti et al., 2014** reporto que la sinéresis está asociada con los valores de pH bajos, ya que la reducción de pH causa el reordenamiento de la red de gel formada por las proteínas.

7.5. Prueba de aceptación dirigida al consumidor.

Tabla 21. Evaluación sensorial de una bebida láctea 1:2 relación leche/jugo a concentración del 0.25% de *Lactobacillus plantarum*.

Parámetro	Puntuación				
	Control (0Con)	0.5 g/L(Con)	1.5g/L(Con)	Control (0Sin)	0.5 g/L(Sin)
Color	4.80±2.32 ^a	5.10±2.16 ^a	4.97±2.27 ^a	4.19±2.45 ^a	4.03±2.40 ^a
Olor	5.46±2.01 ^a	5.14±1.92 ^a	5.23±2.11 ^a	4.46±2.18 ^a	4.40±2.24 ^a
Sabor	5.25±1.96 ^a	5.57±1.76 ^a	5.04±1.90 ^a	2.81±1.89 ^b	2.60±1.89 ^b
Dulzor	4.69±2.16 ^a	5.05±2.06 ^a	4.73±1.89 ^a	2.49±2.00 ^b	2.48±1.93 ^b
Aceptabilidad	5.00±2.05 ^a	5.03±1.84 ^a	4.85±1.91 ^a	2.65±1.94 ^b	2.62±1.93 ^b

Control 0 = sin proteína vegetal, 0.5, 1.5 y 2.5 g/L de proteína vegetal, Con= bebidas con estevia/sucralosa, Sin=bebidas sin estevia/sucralosa, las letras minúsculas son la diferencia significativa a ($P < 0.05$) entre los parámetros.

La selección de bebidas para evaluarlas sensorialmente de acuerdo a una prueba de aceptación se eligió con respecto al recuento de células viables en el día 21 de almacenamiento en relación a pH, acidez titulable y sinéresis. Los resultados de la prueba de aceptación de la bebida láctea con jugo de pitaya a diferentes concentraciones de proteína vegetal para la relación 1:2 (Leche/néctar de pitaya) se muestran en las **tabla 20**. En la bebida con una relación 1:2 (leche /jugo de pitaya) hubo diferencia significativa en sabor y dulzor en la bebida sin estevia/sucralosa que contenía 0.5 g/L de proteína vegetal con respecto al control. Por otro lado la bebida con estevia /sucralosa y 0.5 g/L de proteína vegetal agrado más a los consumidores.

Tabla 22. Evaluación sensorial de una bebida láctea 1:4 relación leche/jugo de pitaya con proteína vegetal a concentración de 0.25% de *Lactobacillus plantarum*.

Parámetro	Puntuación					
	Control (con)	1.5 (con) g/L	2.5 (con) g/L	Control (sin)	0.5 (sin) g/L	2.5 (sin) g/L
Color	6.17±2.45a	6.02±2.15a	5.33±2.44a	5.72±2.26a	5.61±2.61	5.64±2.60a
Olor	6.74±2.04a	5.62±2.08ab	5.59±2.41ab	5.41±2.57ab	5.58±2.34ab	5.13±2.61b
Sabor	6.02±2.35a	4.58±2.03ab	4.72±2.43bc	3.85±1.95bcd	3.35±2.03cd	3.05±2.01d
Dulzor	5.87±2.39a	4.08±1.90bc	4.54±2.21bc	3.40±2.21bc	3.36±1.84bc	2.95±2.27c
Aceptabilidad	5.88±2.31a	4.27±1.95b	4.52±2.40bc	3.26±2.2bc	3.61±2.00bc	2.94±2.09

Control 0 = sin proteína vegetal, 0.5, 1.5 y 2.5 g/L de proteína vegetal, Con= bebidas con estevia/sucralosa, Sin=bebidas sin estevia/sucralosa, las letras minúsculas son la diferencia significativa a (P < 0.05) entre los parámetros.

Encontrando en la **tabla 21**, al incrementar la concentración de jugo de pitaya en la bebida láctea con relación 1:4 (leche/jugo de pitaya) presenta diferencia significativa en todas las bebidas con y sin estevia /sucralosa, sin embargo la bebida con estevia/sucralosa que contenía 1.5 g/L de proteína vegetal fue más aceptable entre los parámetros evaluados con respecto a las demás bebidas que contenían proteína vegetal. La estevia y sucralosa favoreció el sabor la pitaya debido a la acidez que presenta. Los consumidores realizaron comentarios como que dejaba un resabio y se sentía arenosa. Por tal motivo se sugiere utilizar un saborizante orgánico para mejorar el sabor y un tamiz con poros más pequeños para retirar completamente la semilla propia de la pitaya.

CONCLUSIONES

8. CONCLUSIONES

- ✓ La pitaya *Stenocereus stellatus* debido a su alto contenido de pulpa puede ser una alternativa de aprovechamiento para la elaboración de jugos, bebidas y néctares.
- ✓ La pitaya utilizada en esta investigación resultó ser rica en carbohidratos y proteínas y con un indicativo de madurez óptimo para ser utilizada para el desarrollo de productos, dentro de los cuales se encuentran las bebidas fermentadas.
- ✓ La utilización de la tecnología cíclica favorece la presencia humedad y de los componentes de la pitaya *S. stellatus* en el jugo obtenido, incrementando el contenido de grasa en relación con el jugo obtenido utilizando la tecnología convencional con la que se favorece una disminución de proteínas.
- ✓ *Lactobacillus plantarum* permaneció viable en el bebida agua/jugo de pitaya alcanzando una cuenta viable por encima de 8 log UFC/mL durante 21 días de almacenamiento. independientemente de la concentración utilizada.
- ✓ La utilización de las relaciones 1:2 y 1:4 relación leche/jugo de pitaya, fueron las seleccionadas para la elaboración de la bebida láctea con pitaya y proteína vegetal ya que mostraron una mejor viabilidad durante los 21 días de almacenamiento a 4°C.
- ✓ La bebida láctea con jugo de pitaya enriquecida con proteína vegetal de frijol ayocote alcanzó una cuenta viable mayor a 8 log UFC/mL durante el almacenamiento, se observó que la adición de proteínas no tuvo efecto negativo en la supervivencia de *L. plantarum*.

- ✓ La bebida láctea con jugo de pitaya a concentraciones de 0.5 g/L de proteína de frijol de ayocote con una relación 1:2 (leche/jugo) y 1.5 g/L de proteína con relación 1:4 (leche/jugo), ambas endulzadas con estevia y sucralosa fueron las más aceptadas por los consumidores.

RECOMENDACIONES

9. RECOMENDACIONES

- ✓ Se recomienda agregar estabilizantes en la bebida para que no se lleve a cabo la sinéresis y prolongar su vida útil.
- ✓ Agitar la bebida antes de ser consumida y de preferencia consumirse en frío.
- ✓ Evaluar la factibilidad económica del producto y realizar una etiqueta al producto para mejorar su presentación hacia el consumidor.

BIBLIOGRAFIA

10. BIBLIOGRAFÍA

A.O.A.C. (1997). Official Methods of Analysis (19th ed.). Washington DC: Association of Official Analytical Chemist.

A.O.A.C. (2005). Official Methods of Analysis (19th ed.). Washington DC: Association of Official Analytical Chemist.

Aragón, O., Bolaños, V., Ricaurte, D., Caicedo, M., Gurrero, Y. (2012). Obtención de un extracto proteico a partir de harina de chachafruto (*Erythrina edulis*). Revista universidad y salud, 14(2), 161-167. DOI:

Aboufazli, F., Shori, A.B., Baba, A.S. (2016). Effects of the replacement of cow milk with vegetable milk on probiotics and nutritional profile of fermented ice cream. Food Science and Technology, 70, 261-270. DOI: 10.1016/J.lwt.2016.02.056.

ADOU, M., Achille, F., GBANE, M., Nestor, K., Georges, N'. (2012). PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERIZATION OF CASHEW APPLE JUICE (*ANACARDUM OCCIDENTALE, L.*) FROM YAMOOUSSOKRO (CÔTE D'IVOIRE). Innovative Romanian Food Biotechnology, 11, 32-43.

Agudelo, C., Ortega, R., Hoyos J.L. (2010). Determinación de parámetros cinéticos de dos inóculos lácticos: *Lactobacillus plantarum* A6 y bacterias ácido lácticas de yogurt. Facultad de Ciencias Agropecuarias, 8(1), 8-16.

Ayala, O.J., Pichardo, J.M., Estrada, J.A., Carrillo, J.F., Hernández, A. (2006). Rendimiento y calidad de semilla del frijol ayocote en el valle de México. Agricultura Técnica en México, 32(3), 313-321.

Bakr, P. (2016). Influence of food matrix on the viability of probiotic bacteria: A review base don diary and nom-dairy beverages. *Food Bioscience*, 13, 1-8. DOI: 0.1016/j.fbio.2015.11.001.

Bárceñas, P., Jiménez, V. (2010). Pitayas y pithayas (*Stenocereus spp.* e *Hylocereus spp.*), recursos agrícolas en el Valle de Tehuacán Puebla. *Sociedades rurales, producción y medio ambiente*, 10(19), 102-118.

Badui, (2006). PROTEÍNAS. EN GÁLVEZ MARISCAL. QUIMICA DE LOS ALIMENTOS (pp. 222-235). Atlacomulco N° 500, 5° piso, Col. Industrial Atoto 53519, Naucalpan de Juárez, Edo. de México. PEARSON EDUCACIÓN.

Conti, J.P., Ceriani, M.C., Juliarena, M.A., Esteban, E.N. (2012). Perfil Proteico y Peptídico de una base Fluida para Bebidas Funcionales obtenida por Fermentación de Lactosuero. *Información Tecnológica*, 23 (2), 61-70. DOI: 104067/SO718-076420120002.

Charanlampopoulos, D.; Severino, S.P.; (2010). Survival of human derived *Lactobacillus plantarum* in fermented cereal extracts during refrigerated storage. *Food Science and Technology*. 43, 431-435. DOI: 0.1016/j.lwt.2009.09.006.

Colombo, P, T., Scramal, M, G., G, S., Prudencio., S., Prudencio, H, S., (2015). Probiotic viability, physicochemical characteristics and accetability during refrigerated of clarified Apple juice supplmented with with *Lactobacillus paracasei* spp and oligofructose in different packge type. *Food Science and Technology*. 63,415-422. DOI: 10.1016/J.lwt2015.03009.

Daneshi, M., Reza, M., Hadi, S., Labbafi, M. (2013). Effects of refrirated storage oon the probiotic survival and sensory properties of milk/carrot juice mix drink. *Electronic Journal of Biotechnology*. 16, 1-12. DOI: 0.2225/vol16-issue5-fulltext-2.

Corrales-García, J. (2009). Industrialization of Cactus Pads and Fruit in Mexico: Chamllenges and perspectives. *Proc. VIth IC on Cactus and Cochineal*, 103-111.

Duran, S., Rodríguez, M. P., Cordón, K., Record, J. (2012). Estevia (*Stevia rebaudiana*) non- caloric natural sweetener, *Rev Chil Nutr*, 39 (4). 203-206.

Elizaquível, P., Sanchez, G., Salvador, G., Fiszman, S., Dueñas, M.T., López, P., Fernández de Palencia, P., Aznar, R. (2011). Evalution of yogurt and varius beverages as carriers of lactic acid bacteria producing 2 broched (1,3)- β -D-glucan. *Journal of Dairy Science*, 94 (7), 3271-3278. DOI: 10.3168/jds.2010-4026.

Espirito-Santo, A.P., Carlin, F., Renard, C.M.G.C. (2015). Apple, graper or orange juice: Which one offers the best substrate for lactoocilli growth?- A screening study on bacteria viabilty, superoxide dismutase activity, folates production and hedonic characteristics. *Food Reasearch International*. 78, 352-360. DOI: 10.1016/j.foodres.2015.09.014

Fuentes-Barrio, L., Acevedo-Correa, D., Gelvez-Ordoñez, V.M. (2015). Alimentos funcionales retos para el desarrollo y bienestar de la sociedad Colombiana. *Bioteconología en el Sector Agropecuario y Agroalimentario*, 13 (2), 140-149. DOI: 0.18684/BSAA(13)140-149.

García-Cruz, L., Valle-Guadarrama, S., Salinas-Moreno, Y., Luna-Morales., C.C. (2016). Postharvest quality, soluble phenols, betalains content, and antioxidant

activity of *Stenocereus pruinosus* and *Stenocereus stellatus*. Postharvest Biology and Technology.111, 69-76. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2015.07.004.

Gonzales., B.A., Domínguez-Espinosa, R., Alcocer, B.R. (2008). *Aloe vera* como sustrato para el crecimiento de *Lactobacillus plantarum* y *L. casei*. Ciencia y tecnología alimentaria, 6(2) ,152-157.DOI: 10.1080/11358120809487640.

Guerrero, J.R. (2011). Utilización de probióticos (*Lactobacillus plantarum*). En la elaboración de una bebida de soya. Universidad Técnica de Ambato-Ecuador. Tesis de ingeniería.

Jurado-Gómez, H. Ramírez, C., Aguirre, D. (2013). Cinética de fermentación de *Lactobacillus plantarum* en un medio de cultivo enriquecido como potencial probiótico. Veterinaria y Zootecnia ISSN, 7(2), 37-43.

García-Suárez, Carreto-Montoya, F.L., Cárdenas-Navarro R., Diaz-Perez, J.C., López- Gómez, R. (2007). Pitaya (*Stenocereus stellatus*) fruit growth is associated to wet season in Mexican dry tropic. International Journal of EXPERIMENTAL Botany. 76, 17-26. ISSN: 0031-9457.

Haro, J.F. (2006). Biodisponibilidad de diferentes compuestos de hierro añadidos a un néctar de frutas funcional. Interacción con las vitaminas y fructo-oligosacáridos Universidad de Murcia, España. Tesis Doctoral.

Kandylis, P., Pissaridi, K., Bekatorou, A., Kanellaki, M., Koutinas, A. (2016). Dairy and non-dairy probiotic beverages. Food science , 7, 58-63. ADOI: 10.1016/j.cofs.2015.11.012.

Luna-Morales, C., Aguirre, J., Peña-Valdivia., C.B. (2001). Cultivares tradicionales mixtecos de *Stenocereus pruinosus* y *S. stellatus* (Cactaceae). Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma Nacional de México, Serie Botánica, 72 (2), 131-155.

Mani-Lopez, E., Palou, E., López-Malo, A. (2014). Probiotic viability and storage stability of yogurts and fermented milks prepared with several mixtures of lactic acid bacteria. Journal of Dairy Science, 97 (5), 2578-2590. DOI: 10.3168/jds.2013-7551.

Maia, M.G., Vidal, T., Tiberio, A.L. (2013). Sonicated pineapple Juice as juice as substrate for *L. casei* cultivation for probiotic beverage development: Process optimisation and product stability. Food Chemistry, 139, 261-266. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.01.059.

Miquilena, E., Higuera, A. (2012). Evaluación del contenido de proteínas, minerales y perfil de aminoácidos en harinas de *Canajus cajan*, *Vigna radiata* para su uso en la alimentación humana. Revista Científica UDO Agrícola, 12(3), 730-740.

Moayednia, N., Rehsani., M., Emamdjomeh, Z., Fmazaheri, A. (2009). Effect of refrigerated storage time on the viability of probiotic bacteria in fermented milk drinks. International Journal of Dairy Technology. 02 (2), 204-208. DOI: 10.1111/j.1471-0307.2009.00473.x.

Neacsu, N.A., Madar, A. (2014). Artificial sweeteners versus natural sweeteners. Boletín of the Transilvania University of Brasov, 7(1), 60-64.

Nematollahi, A., Sohrabvandi, S, Mohammad M., A., Jazaeri., S. (2016). Viability of probiotic bacteria and some chemical and sensory characteristics in cornelian cherry

juice during cold storage. *Electronic Journal of Biotechnology*. 21, 40-53. DOI: 10.1016/j.ejbt.2016.03.001

NORMA DEL CODEX PARA LECHES FERMENTADAS (CODEX STAN 243-2003).
NORMA GENERAL DEL CODEX PARA ZUMOS (JUGOS) Y NECTARES DE FRUTAS (CODEX STAN 247-2005).

NORMA OFICIAL MEXICANA (NOM-173-SCFI-2009), Jugos de frutas preenvasados-Denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba.

Nualkaekul, S., Charalampopoulos, D. (2011). Survival of *Lactobacillus plantarum* in model solutions and fruit juices. *International Journal of Food Microbiology*. 146, 111-137. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.01.040.

Ochoa-Velasco, C.E., García-Vidal, V., Luna-Guevara, J.J., Luna-Guevara, M.L., Hernandez-Carranza, P., Guerrero-Beltrán., J.A. (2012). Características antioxidantes, fisicoquímicas y microbiológicas de jugo fermentado y sin fermentar de tres variedades de pitahaya (*Hylocereus* spp). *Scientia Agropecuaria*, 3, 279-289.

Oliveira, D., Vidal, L., Ares, G. Walter, E.H.M., Rosenthal, A., Deliza, R. (2017). Sensory, microbiological and physicochemical screening of probiotic cultures for the development of non-fermented probiotic milk. *Food Science and Technology*, 79, 234-241. DOI: 10.1016/j.lwt.2017.01.020.

Oliveira, M.N. Sodini, I., Remeuf, F., Tissier., J.P., Corrieu., G. (2002). Manufacture of Fermented Lactic Beverages Containing Probiotic Cultures. JOURNAL OF FOOD SCIENCE, 67, (6), 2336-2341.

Ossa, J.A., Venegas, M.C., Badillo, A.M. (2010). Evaluación de la melaza de caña como sustrato para el crecimiento de *Lactobacillus plantarum*. Revista U.D.C.A. Actualidad y Divulgación científica, 13(1), 97-104.

Özer, B.H, Avnikirmaci, H. (2010). Functional milks and dairy beverages. International Journal of Dairy Technology-a review, 63, (1), 1-15. DOI:10.1111/j.1471-0307.2009.00547.x.

Pereira de Souza, A., Aparecida, G., da Silva, L.H., Furlaneto-Maia, L., de Oliveira, A.F. (2013). Microbiological, physical, chemical and sensory characteristics of milk fermented with *Lactobacillus plantarum*. Maringa, 35 (1), 125-131. DOI: 10.4025/actascihealthsci.v35i1.11939.

Pereira, A.L., Maciel, C., Rodríguez, S. (2011). Probiotic beverage from cashew Apple juice fermented with *Lactobacillus casei*. Food Research International, 44, 1276-1283. DOI: 10.1016/j.foodres.2010.11.035

Pliego, A.D. (2009). Características generales de la pitaya (*Stenocereus Stellatus*), en México. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Perez-Loredo, M.G., Garcia-Ochoa, F., Barragán- Huerta, E. (2016). Comparative Analysis of Betalain Content in *Stenocereus Stellatus* Fruits Using Principal Component Analysis. 19, 326-338. DOI: 10.1080/10942912.2015.1022259.

Rivera-Espinoza, Y., Gallardo-Navarro, Y. Non-dairy probiotic products. (2010). Food Microbiology, 27,1-11. DOI: 0.1016/j.fm.2008.06.008.

Ruben, J. (2010). Edulcorantes naturales. LA GRANJA. Revista de ciencias de la vida, 12(2), 3-12. ISSN: 1390-3799.

Rojas-Arechiga, M., Casas, A., Vazquez-Yanes, C. (2001). Seed germination of wild and cultivated *Stenocereus stellatus* (Cactaceae) from the Tehuacán-Cuicatlán Valley Central México. Journal of arid environments, 49, 279-287. DOI: 10.1006/jare.2001.0789.

Siró, I., Kápolna, E., Kápolna B., Lugasi, A. (2008). Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance-A review. Appetite, 51, 456-467. DOI: 10.1016/j.appet.2008.05.060.

Sharma, V., Sohn, M, Anquandah, G, Nesna, N. (2012). Kinetics of the oxidation of sucralose and related carbohydrates by ferrate (VI). Chemosphere, 87, 644-648. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2012.01.019

Schwember, A.R., Carrasco, B. Gepts, P. (2017). Unraveling agronomic and genetic aspects of runner bean (*Phaseolus coccineus* L.). Field Crops Research, 206, 86-94. DOI: 10.1016/j.fcr.2017.02.020.

Salvador-Reyes, R., Sotelo-Herrera, M., Paucar- Menacho, L. (2014). Estudio (*Stevia rebaudiana* Bertoni) como edulcorante y su uso beneficioso de la salud. Scientia agropecuaria, 5, 157-163.

Santillan-Urquiza, E., Méndez-Rojas M.A., Velez, J.F. (2014). Productos lácteos funcionales, fortificados y su beneficios en la salud humana. Programa de doctorado en ciencias en alimentos, 8(1), 5-14.

Sampedro, F., Rivas, A., Martínez, A., Rodrigo, M. (2006). Pulsed electric fiels inactivation of *Lactobacillus plantarum* in an orange juice- milk base bevarage: Effect of process parameters. Journal of food engineering, 80, 931-938. DOI: 0.1016/j.jfoodeng.2006.08.013.

Salmmeron, I., Thomas, K., Pandiella, S. (2015). Effect of potencially probiotic lactic acid bacteria on the physicochemical composition and acceptance of fermented cereal beverages. Journal of food, 15, 106-115. DOI: 10.1016/j.jff.2015.03.012.

Teniente-Martínez, G., Gonzales, L., Cariño-Cortes, R. Bernardino-Nicanor. (2016). Caracterización de las proteínas del frijol ayocote (*Phaseleus coccineus* L.). Investigación de Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos, 1 (1), 1-6.

Tanwar, B., Andallu, B., Chandel. (2014). Influence of processing on Physicochemical and Nutritional Composition of *Psidium Guajava* L. International Journal of Agriculture Food Science Technology, 2, 47-54. ISSN: 2249-3050.

Vargas, M.L.P., Muruaga, J.S., López, R., Pérez, A. (2012). La colección INIFAB de frijol ayocote (*Phaseolus coccineus* L.) I. Distribución geográfica de sitios de colecta. Revistas Mexicana de Ciencias Agrícolas, 3 (6), 1247-1259.

Vargas, M.L.P., Muruega, J.S, Meyek, N., Pérez, A., Ramírez, S. (2014). Caracterización del frijol ayocote (*Phaseolus coccineus* L.), Caracterización de frijol

ayocote (*Phaseolus coccineus* L.) del Eje Neovolcánico y la Sierra Madre Oriental. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, 5(2), 191-200.

Vargas-Velásquez, P., Mueruaga-Martínez, Martínez-Villareal, S., Ruiz-Salazar, R., Hernández-Delgado, S., Mayek -Pérez, N. (2011) Diversidad morfología del frijol ayocote del Carso Huasteco de México. Revista Mexicana de Biodiversidad, 82, 767-775.

Young, Y., Woodams, E., Hang, Y. (2006). Production of probiotic cabbage juice lactic acid bacteria. Bioresource Technology, 97, 1427-1430. DOI: 10.1016/j.biotech.2005.06.018.

Zucca, P., Sanjuste, E., Trogu, E., Sollai, Rescigno, A. (2010). Evaluation of antioxidant- declared beverages marketed in Italy. Ital. J. Food Sci, 3 (22), 313-319.

ANEXOS

11. ANEXOS

Anexo 1. Formato para la prueba de aceptación dirigida al consumidor EVALUACIÓN SENSORIAL BEBIDA LÁCTEA PROBIÓTICA

ESCUELA: _____

SEMESTRE: _____

EDAD: _____ SEXO: _____ FECHA: _____

- Gracias por participar en esta evaluación sensorial de la “bebida láctea con pitaya, probiótico y proteína vegetal ”
- La información que usted proporcionara será de mucha utilidad.

INDICACIONES:

1. Por favor antes de empezar tome un sorbo de agua, pruebe el producto.
2. Observe, huela y pruebe la bebida.
3. Anote el código de la muestra correspondiente sobre la línea marcada.

Color No me gusta _____ Me gusta

Olor No me gusta _____ Me gusta

Sabor No me gusta _____ Me gusta

Dulzor No me gusta _____ Me gusta

Aceptación No me gusta _____ Me gusta

Observaciones: _____

Anexo 2. Medio de cultivo Man, Ragosa y Sharp (MRS)

Reactivos	g/1000 mL
Peptona de caseína	10
Extracto de levadura	5
Extracto de carne	10
Fosfato de potasio	6
Citrato de amonio	2
Dextrosa	20
Tween 80	1
Acetato de sodio	5
Sulfato de magnesio	0.575
Sulfato de manganeso	0.12
Cloruro de litio	3
Cisteína	0.35
Agar Bacteriológico	10.5

Inhibidores

Reactivos	g/1000 mL
Ácido nalidixidico	0.0.15
Sulfato de neomicina	0.1

Anexo 3. Solución Reguladora Buffer de Fosfatos de Sorensen

Preparar dos soluciones de 0.1 M de Na_2HPO_4 (14.2 g/L) y de KH_2PO_4 (13.61 g/L), mezclar en las siguientes proporciones: 9:1 v/v de Na_2HPO_4 y KH_2PO_4 . Este regulador tiene un pH de 7.6.