BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

Facultad de Ciencias Químicas

Licenciatura en Químico Farmacobiólogo

Desarrollo de una bebida fermentada a base de guanábana (*Annota muricata* L.), suero de leche, *Lactobacillus acidophilus* e inulina

Abril 2024

TESIS

Presentada para obtener el grado de Licenciatura en Químico Farmacobiólogo

Presenta:

p.QFB Samantha Fernández Huazo

Director de Tesis:

Dra. Paola Hernández Carranza

Co-Director de tesis:

Dr. Carlos Enrique Ochoa Velasco

BUAP

"HUP, 50 años de enseñanza y salud"

OFICIO C.Q./CT 043P/2023

C. Samantha Fernández Huazo
PRESENTE

Toda vez que se cuenta con la aprobación de la Coordinadora de QFB, le comunico que su anteproyecto de Tesis denominado:

"Desarrollo de una bebida fermentada a base de guanábana (Annota muricata L.), suero de leche, Lactobacillus acidophilus e inulina"

ha sido autorizado, siendo:
Dra. Paola Hernández Carranza, Directora de Tesis
Dr. Carlos Enrique Ochoa Velasco, Co-Director

Y con esta fecha se registra en los archivos de la Dirección de esta Facultad, para los fines legales que tenga lugar.

Atentamente
"Pensar bien, para vivir mejor"
H. Puebla de Z., 5 de septiembre de 2023

Dr. Jorge Raúl Cerna Cortez
Director Facultad de Ciencias Químicas

c.c.p. Archivo
Cadena digital: 6Gp'Jf,Pm(Mw,Bs)Lm+Ao'Xs%Uf*Wm)Ck/Zw/Eg,Ku'Ju)Da-Bd#Gc-Ig%Kh%Bf*Vk'Yb)Wm&Hg"Qz!Xb(Se.Ov*Ob$Vb!Oq"Uz&Uq%Ib(Hw"Xj+Sn*Vm'Dd"Ic-Vi"Lj)Dg-Rl,Uu'JlXtBd)Tu#Bn-Xg)Zg,Pf!So(Mo&Mv(Fk)Ly(Pj"Oh,Yv(Ul.Kr-Ou/Os+La(Lw&Lp"Xc-Ii%Bs,Qv)Fn-Dh)Bm*Xj#Hh+Ox+Cf.Kd%Qg&Qq+Qo.Ku(Ko%Yt-Uk.Oj,Pr/Kk*Bl(

Facultad de Ciencias Químicas
San Claudio No. 1, Edificio FCQ-9
Ciudad Universitaria, Col. San Manuel
Puebla, Pue. C.P. 72540
01 (222) 229 5500 Ext. 7390

BUAP

OFICIO *C.Q./CT 018CR/2024*

Dr. Raúl Ávila-Sosa Sánchez

Dr. Irving Israel Ruíz López

Dra. Carolina Ramírez López

Con toda atención comunico a Ustedes que se les propone como integrantes de la Comisión Revisora del trabajo de Tesis que presenta el pasante de la Licenciatura en Químico Farmacobiólogo

Samantha Fernández Huazo

cuyo título es:

"Desarrollo de una bebida fermentada a base de guanábana (Annota muricata L.), suero de leche, Lactobacillus acidophilus e inulina"

Asimismo, les solicitamos que a la brevedad posible emitan el dictamen correspondiente.

Atentamente
"Pensar bien, para vivir mejor"
H. Puebla de Z., 7 de marzo de 2024

Dr. Jorge Raúl Cerna Cortez
Director Facultad de Ciencias Químicas

c.c.p. Archivo

Cadena Digital: 0Gn,Er$Tx.Xf,Xi/Tw'Fz'Yr#Nn'Cc-Cm$Bv.Nk-Ui.Tm$Dc"Cy.Ds-Ao%Lw+Ks!Be!Fg*Fs/Za&Qn-Wi,Rj"Ck%Vh+Xu(Qp(Gf'Tm&Qk"Dl/Wb-Mq%Oa+Yc-Xa!Uj)Kn)Mh,St/Bt(Gx-Ug%Dz&Ns-Co.Fz+Kw%Zx#Ua.Ai#Br+Rx.Zu$Gp/Km*Kd,Xe)Hj+Dw/Em(Cb/Rh%Cy!Xx*Ci'Dg'Gj#Xz,Nv"Jb*Pn'Kc)Vd+Ft!Hn&Dk"Py(Fo/Mc'Jc(Zj)Bl)Uo)Gz-Cc"Bf/

Facultad de Ciencias Químicas
San Claudio No. 1, Edificio FCQ-9
Ciudad Universitaria, Col. San Manuel
Puebla, Pue. C.P. 72540
01 (222) 229 5500 Ext. 7390

OFICIO C.Q./CT 009A/2024

Dr. Jorge R. Cerna Cortez
Director Facultad de Ciencias Químicas
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Los que suscriben, integrantes de la Comisión Revisora de Tesis de la alumna de la Licenciatura en Químico Farmacobiólogo

Samantha Fernández Huazo

comunican a Usted la autorización para la publicación del trabajo de tesis bajo la dirección de la Dra. Paola Hernández Carranza y del Dr. Carlos Enrique Ochoa Velasco, con el siguiente título:

"Desarrollo de una bebida fermentada a base de guanábana (Annota muricata L.), suero de leche, Lactobacillus acidophilus e inulina"

Se extiende la presente, para los usos que al interesado convengan el día 14 de marzo de 2024.

Atentamente
"Pensar bien, para vivir mejor"
H. Puebla de Z., a 14 de marzo de 2024

Dr. Raúl Ávila-Sosa Sánchez, Presidente

Dr. Irving Israel Ruíz López, Secretario

Dra. Carolina Ramírez López, Vocal

c.c.p. Archivo

Cadena digital: 2Vs'Hp*Ut'Wj%Do+No"Ka&Cj(Ew'Yk&Qk/Ee"Wz#He)Ur%Mk-Nm,Zs.Vr+Bc)Sh.Vk$Sz(Ni-Eh"Hn'Lj&Mj/Bv/Al!Cw%Zl"Rc,Kp)Zq)Qa-Ij,Dr-Dk+Nt,Nn"Rv/Rb+Xl)Np"Kj"Gf'Yp!Pq-Ru+Lz,Qc"Br(Vh%Az+Ch"Wd+Yk"Xn"Rh*Kd'Ks/Xz+Ph!Hu-On"Uu-Xn+Az/Fy"Gc%De-He/Ng'Wn%Qy.Jb/Wc(Nl%Xi$Rb(Pi%Kx%Yg+Xl.Bc'Ia-Kh'Eh/Nj%Dl"Wn!

Facultad de Ciencias Químicas
San Claudio No. 1, Edificio FCQ-9
Ciudad Universitaria, Col. San Manuel
Puebla, Pue. C.P. 72540
01 (222) 229 5500 Ext. 7390

ÍNDICE GENERAL

..... 1
RESUMEN 10
1. INTRODUCCIÓN 11
2. ANTECEDENTES 12
2.1. Guanábana 12
2.1.1. Características generales 12
2.1.2. Contenido nutricional 13
2.1.3. Usos tradicionales 14
2.2. Compuestos bioactivos 14
2.2.1. Definición 14
2.2.2. Clasificación de los compuestos bioactivos 15
2.2.3. Compuestos bioactivos en la guanábana 16
2.2.3.1. Acetogeninas (ACG) 17
2.2.3.2. Fenoles 17
2.2.3.3. Alcaloides 17
2.3. Fermentación 18
2.3.1. Generalidades 18
2.3.2. Clasificación 18
2.4. Bebidas 20
2.4.1. Definición 20
2.4.2. Bebidas elaboradas con frutas y verduras 20
2.4.3. Bebidas a base de lácteos 21
2.4.4. Bebidas deportivas y energéticas 23
2.5. Bacterias ácido-lácticas 23
2.5.1. Generalidades 23
2.5.2. Clasificación 24
2.5.3. Importancia de las BAL en alimentos y bebidas 25
2.6. Género *Lactobacillus* spp. 25
2.6.1. *Lactobacillus acidophilus* 26
2.7. Probióticos 26
2.7.1. Generalidades 26

2.7.2. Beneficios para la salud 28
2.8. Prebióticos 29
2.8.1. Fructanos 29
2.8.2. Galactooligosacáridos (GOS) 30
2.8.3. Oligosacáridos de leche humana (OLH) 31
2.9. Inulina 31
2.9.1. Generalidades 31
2.10. Suero de leche 33
3. JUSTIFICACIÓN 35
4. OBJETIVOS 36
4.1. Objetivo General 36
4.2. Objetivos Específicos 36
5. DIAGRAMA DE TRABAJO 37
6. MATERIALES Y MÉTODOS 38
7. METODOLOGÍA 40
7.1. Caracterización fisicoquímica de guanábana liofilizada 40
7.1.1. pH 40
7.1.2. Sólidos solubles 40
7.1.3. Acidez 40
7.2. Caracterización bromatología de guanábana liofilizada 40
7.2.1. Humedad 40
7.2.2. Cenizas 40
7.2.3. Grasa 40
7.2.4. Proteína 41
7.2.5. Fibra dietética 41
7.2.6. Carbohidratos 41
7.3. Determinación de compuestos bioactivos de guanábana liofilizada 41
7.3.1. Compuestos fenólicos 41
7.3.2. Capacidad antioxidante 42
7.4. Reactivación de la cepa 42
7.5. Formulación de bebidas 42
Cada sistema se adicionó con edulcorante Stevia 0.5 g por cada 100 mL. 42

7.6. Prueba sensorial de las bebidas fermentadas 42
7.7. Caracterización bromatológica de las bebidas fermentadas 43
7.8. Población de *L. acidophilus* en las bebidas fermentadas..... 43
7.9. Determinación de compuestos bioactivos de bebidas fermentadas..... 43
7.10. Evaluación durante el almacenamiento 43
7.11 Análisis estadístico..... 44
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 45
8.1. Caracterización fisicoquímica y bromatológica de guanábana..... 45
8.2. Compuestos funcionales de guanábana 46
8.3. Población de *Lactobacillus* en las bebidas de guanábana 47
8.4. Evaluación sensorial de bebidas fermentadas 48
8.5. Caracterización bromatológica de las bebidas fermentadas 49
8.6. Compuestos fenólicos y capacidad antioxidantes en las bebidas fermentadas 50
8.7. Efecto del almacenamiento sobre la viabilidad de *L.* acidophilus, los compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de bebida fermentada..... 52
9. CONCLUSIONES 54
10. RECOMENDACIONES 55
11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 56

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Valor alimenticio por 100g de porción comestible de guanábana. 13

Tabla 2. Clasificación y principales fuentes dietarías de compuestos bioactivos.. 15

Tabla 3. Clasificación de los principales tipos de fermentación relacionados con la producción de alimentos..... 19

Tabla 4. Diferentes tipos de sustrato y microrganismo utilizados para el desarrollo de bebidas..... 21

Tabla 5. Aplicaciones de los productos fermentados y componentes que promueven la salud..... 22

Tabla 6. Microorganismos probióticos utilizados en la nutrición humana. 27

Tabla 7. Efectos de los FOS e inulina en el cuerpo humano. 30

Tabla 8. Plantas con contenido de inulina. 32

Tabla 9. Composición del suero de leche dulce y ácido. 34

Tabla 10. Métodos y referencias..... 38

Tabla 11. Equipos que se utilizaron..... 39

Tabla 12. Formulación de bebidas con guanábana liofilizada, suero de leche e inulina..... 42

Tabla 13. Caracterización fisicoquímica y bromatológica de pulpa de guanábana liofilizada..... 45

Tabla 14. Compuestos funcionales pulpa de guanábana liofilizada..... 47

Tabla 15. Evaluación sensorial de las bebidas fermentadas con *L. acidophilus.*.. 49

Tabla 16. Composición bromatológica de bebidas fermentadas con *L. acidophilus*[a]. 50

Tabla 17. Efecto del almacenamiento sobre la viabilidad de *L. acidophilus*, los compuestos fenólicos, capacidad antioxidante de bebida fermentada..... 53

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química de silla de la inulina. 32

Figura 2. Esquema de la metodología que se siguió. 37

Figura 3. Crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* en las bebidas formuladas con guanábana, suero de leche e inulina. 48

Figura 4. Compuestos fenólicos de las bebidas fermentadas con *L. acidophilus.* 51

Figura 5. Capacidad antioxidante de las bebidas fermentadas con *L. acidophilus*. 52

RESUMEN

Los alimentos funcionales se han convertido en una excelente estrategia para contrarrestar enfermedades. Algunos de los alimentos de mayor demanda son las bebidas funcionales, las cuales se elaboran a partir de cereales, leguminosas o frutas, estas bebidas pueden contener otros ingredientes como los prebióticos y probióticos.

En este trabajo se realizó la caracterización fisicoquímica, bromatológica, y compuestos funcionales de guanábana liofilizada. Posteriormente, se formularon bebidas con guanábana, suero de leche e inulina, las bebidas se fermentaron con *Lactobacillus acidophilus* durante 24 h a 37°C. A las bebidas se le realizó la caracterización bromatológica, sensorial, así como su contenido en compuestos fenólicos, capacidad antioxidante y la viabilidad de *L. acidophilus.* Se seleccionó la bebida con mayor aceptación sensorial, se almacenó a 5°C durante 20 días y se analizó.

Los resultados mostraron que la guanábana liofilizada contiene ingredientes funcionales como fibra dietética (<3%), compuestos fenólicos (352 mg EAG/100 g) y capacidad antioxidante (1130 mg Trolox/100 g). Las bebidas fermentadas contienen materia inorgánica (<0.1%) y proteína (0.8 y 2%), así como una población de *L. acidophilus* de 7 ciclos logarítmicos.

Respecto al almacenamiento, la bebida con inulina, suero, guanábana y *L. acidophilus* (sistema 5), mantuvo la viabilidad de *L. acidophilus* superior a 6 ciclos logarítmicos, se observó una disminución de los compuestos fenólicos en un 32 %, mientras que la capacidad antioxidante aumentó.

Las bebidas fermentadas en este trabajo pueden ser consideradas “funcionales” por la presencia de probióticos, prebióticos y compuestos bioactivos.

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente existe una creciente problemática por los malos hábitos alimenticios de la población, la falta de ejercicio y el aumento de enfermedades crónico-degenerativas, una de las causas que puede provocar esto es un consumo deficiente de alimentos que aportan nutrientes necesarios, sin embargo, esto puede prevenirse mediante el consumo de alimentos funcionales.

Los alimentos funcionales contienen ingredientes biológicamente activos que cumplen una función específica y contribuyen a mejorar la salud, algunos de estos ingredientes son: vitaminas, minerales, ácidos grasos polinsaturados, prebióticos, probióticos y compuestos bioactivos.

Los probióticos son microorganismos vivos que en cantidades elevadas otorgan beneficios a la salud, los géneros más utilizados son *Lactobacillus* y *Bifidobacterium,* para mantener la viabilidad de los probióticos es necesario la adición de prebióticos, los cuales son oligosacáridos no digeribles resistentes a las enzimas digestivas, que estimulan selectivamente el crecimiento y/o actividad de bacterias propias del intestino, generando así un beneficio para la salud, algunos de ellos son la inulina, fructoligosacáridos, galactooligosacáridos, entre otros. Recientemente la incorporación de probióticos y prebióticos en alimentos, se denomina simbióticos, uno de los sectores donde se pueden incorporar estos ingredientes son las bebidas, las cuales pueden ser elaboradas a partir de cereales, leguminosas y frutas, estas últimas contienen vitaminas y minerales, también son fuente de fibra dietética y antioxidantes.

La guanábana es un fruto ampliamente cultivado en Latinoamérica, que contiene carbohidratos simples, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante, es un fruto perecedero, por lo que es necesario buscar alternativas para su procesamiento.

Por lo cual, el objetivo de este trabajo es desarrollar bebidas fermentadas a base de guanábana, suero de leche, *Lactobacillus acidophilus* e inulina y evaluar sus componentes funcionales durante el almacenamiento.

2. ANTECEDENTES

2.1. Guanábana

2.1.1. Características generales

La guanábana cuyo nombre científico es *Annona muricata L.,* pertenece a la familia de las Annonaceae, la cual está formada por 130 géneros y 2300 especies y es originaria de América (Mutakin et al., 2022). Su etimología procede del arawak wanabán, Annona del nombre taíno anona, y muricata del latín, en el que significa erizado, por el aspecto áspero y espinoso de la cáscara (Vit et al., 2014).

Se trata de una fruta con forma ovalada que algunos autores denominan también como acorazonada, cuyo diámetro varía entre 15 y 20 cm (Moghadamtousi et al., 2015); se encuentra cubierta por una cáscara de color verde que tiene la peculiaridad de tener una especie de espinas pequeñas, suaves y curveadas. En el interior está la pulpa, de textura similar a la del algodón, al ser blanca y suave, pero también cremosa, jugosa y recubriendo a las semillas; las semillas son negras, ovaladas y duras de un tamaño de 1.25 a 2 cm de largo, generalmente puede tener unas 200 semillas (Ávila de Hernández et al., 2012). El árbol de guanábana, crece en zonas tropicales y subtropicales, es sensible a las heladas y bajas temperaturas, comienza a dar el fruto hasta después de 3 a 5 años de plantado, alcanzando una altura de 5 a 8 m (Vandebroek y Picking, 2020).

La guanábana es considerada un fruto climatérico debido a su tasa de respiración, este tipo de frutos se caracterizan porque pueden madurar incluso después de ser cosechados, una vez alcanzada la madurez fisiológica; donde la intensidad respiratoria y producción de etileno son altas, lo que hace a este fruto extremadamente perecedero (Jiménez et al., 2017); además de existir un problema en el manejo de la fruta fresca debido al gran porcentaje de humedad que presenta (Santos et al., 2023). Debido a esto, es indispensable la aplicación de tecnologías que permitan alargar la vida útil y conservar las características propias del fruto, ya que estos después de la cosecha suelen ser muy susceptibles a daños físicos, químicos y microbiológicos (Mendoza-Méndez et al., 2022).

Una de las tecnologías en las que se podría pensar en primera instancia seria la refrigeración, sin embargo, la guanábana es un fruto que sufre daños fisiológicos cuando es almacenada a temperaturas que van de los 4 a los 18°C, es decir, presenta gran sensibilidad al frío, lo que les genera múltiples daños como pardeamiento de la pulpa o pérdida de sabor. Algunos estudios mencionan que la guanábana puede ser almacenada a 15°C, esta temperatura solo retrasa tres días el tiempo necesario para la maduración, tiempo que, a nivel de la industrial es muy corto (Jiménez et al., 2017).

2.1.2. Contenido nutricional

El fruto de guanábana se encuentra compuesto en su mayoría por la pulpa comestible con un 67.5%, otro 20% que corresponde a la cáscara, 8.5% a las semillas y el 4% restante que es de núcleo en peso. La pulpa de guanábana contiene 80-81% de agua, 1% de proteína, 18% de carbohidratos, 24.5% de azúcares no reductores y vitaminas como la B1, B2 y C (Badrie y Schauss, 2010). Además, presenta fibra dietética, lo que ha demostrado importantes aplicaciones en la nutrición y salud humana, sin olvidar que es una fruta muy baja en calorías (Anaya y Montalvo, 2020). La Tabla 1 muestra algunos componentes nutricionalmente importantes, así como aporte calórico de la guanábana.

Tabla 1. Valor alimenticio por 100 g de porción comestible de guanábana.

Componente	Valor
Calorías	53.1-61.3 Kcal
Humedad	82.8 g
Proteína	1.00 g
Grasas	0.97 g
Carbohidratos	14.63 g
Fibra	0.79 g
Ceniza	60 g
Calcio	10.3 mg
Fósforo	27.7 mg
Hierro	0.64 mg

Tiamina	0.11 mg
Riboflavina	0.05 mg
Niacina	1.28 mg
Ácido ascórbico	29.6 mg
Triptófano	11 mg
Metionina	7 mg
Lisina	60 mg

Fuente: Badrie y Schauss, 2010.

2.1.3. Usos tradicionales

La pulpa de la guanábana es comúnmente consumida cruda (fresca) o procesada, esta última se encuentra disponible en el mercado como conserva. Sin embargo, tiene un inmenso potencial debido a sus propiedades sensoriales como el sabor, aroma y olor (Ávila de Hernández et al., 2012); lo que hace a la fruta una materia prima apta para su procesamiento en forma de jugos, néctar, helado, gelatina, mermelada, batidos, yogurt y bebidas alcohólicas (Anaya y Montalvo, 2020).

La importancia del uso de frutas, como la guanábana, en la elaboración de diversos productos, radica principalmente en el contenido de compuestos bioactivos que presentan.

2.2. Compuestos bioactivos

2.2.1. Definición

Los compuestos bioactivos son metabolitos secundarios producidos por las plantas, que tienen una influencia positiva en la salud humana, más allá del valor nutricional básico del alimento (Casagrande et al., 2021); generalmente, se encuentran en frutas, verduras, especias, cereales y leguminosas (Fuentes et al., 2019). Se ha demostrado que los compuestos bioactivos son capaces de desempeñar actividades biológicas como antimicrobianos, antioxidantes, antiinflamatorios, antimutagénicos y anticancerígenos, de ahí que ha aumentado la necesidad de incluirlos en la dieta diaria (Bansal et al., 2022).

2.2.2. Clasificación de los compuestos bioactivos

No existe una clasificación completamente establecida para los compuestos bioactivos, aunque algunos autores los clasifican en tres grupos, terpenos, compuestos fenólicos y alcaloides; existe una clasificación más completa formada por siete grandes grupos, tal y como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Clasificación y principales fuentes dietarías de compuestos bioactivos.

Familia de compuestos bioactivos	Estructura	Principales compuestos	Fuentes alimentarias
Polifenoles	Compuestos con más de un grupo fenol en su estructura	Quercetina, catequinas, resveratrol, hidroxitirosol, miricetina, taninos, fisetina, kaempferol	Cebollas, té verde, arándanos, frambuesas, maqui, calafate, vino, uvas, aceite de oliva, manzanas, cacao
Carotenoides	Compuestos pigmentados de origen vegetal, en su mayoría tetraterpenoides que se derivan de ocho moléculas de isopreno	Carotenos (insaturados y sin oxígeno estructural): Licopeno, α- y β-caroteno. Xantófilas (con oxígeno estructural): Luteína, zeaxantina, astaxantina	Tomates, zanahorias, mangos, espinacas, kale, pimientos
Glucosinolatos	Son S-glicósidos en los que la glicona es β-D-tioglucosa y la aglicona es una oxima sulfatada	Glucorafanina, sinigrina, glucotropaeolina, gluconastruiina	Familia de las crucíferas: brócoli, coliflor, repollo morado, rábano, arúgula.

Organoazufrados	Compuestos orgánicos que contienen azufre derivados del aminoácido cisteína	Aliína, dialilsulfuro, alicina, ajoeno, S-alilcisteína, S-alilmercaptocisteía	Cebolla, cebollín, puerro, ajo
Fitoestrógenos	Compuestos no esteroidales que pueden comportarse como antagonistas de receptores de estrógenos	Genisteína, daidzeína, gliciteína	Poroto de soya y sus derivados, legumbres
Esteroles y Estanoles	Estructura muy similar al colesterol pero sus sustituyentes son del tipo metilo o etilo en la cadena lateral de la molécula	ß-sitosterol, estigmasterol, campesterol, sitostanol, campestanol	Aceites vegetales (maíz, girasol, soja, oliva), cereales, legumbres, frutos secos, hojas y tallos de diversas hortalizas
Mono y diterpenos	Moléculas volátiles lineales formadas de unidades poliméricas de isopreno, monoterpeno y diterpeno	Limoneno, geraniol, linalol, carvacrol, timol, eugenol	Mandarinas, limones, naranjas, berenjenas, especias como: romero, orégano, tomillo, clavo de olor, canela.

Fuente: Fuentes et al., 2019.

2.2.3. Compuestos bioactivos en la guanábana

Se han identificado hasta 212 compuestos bioactivos en las diferentes partes de la guanábana, que incluyen hojas, tallo, raíz, semilla, cáscara y fruto. Dentro de los que podemos encontrar en el fruto destacan las acetogeninas, compuestos fenólicos y alcaloides (León-Fernández et al., 2021).

2.2.3.1. Acetogeninas (ACG)

Son consideradas los principales compuestos bioactivos de la guanábana, se trata de metabolitos secundarios derivados de los ácidos grasos; constituidos por una larga cadena alifática con grupos oxigenados, terminada por una γ-metil-γ-lactona, con uno o dos tetrahidrofuranos a lo largo de la cadena de los hidrocarburos (Anaya y Montalvo, 2020). Las ACG destacan por su toxicidad contra células cancerosas, aunque también exhiben otras actividades biológicas como la antiparacitaria, antipalúdica y pesticida. Las AGE presentes en la guanábana son la epomusenina A y B, epomurinina A y B, cis- annoreticuina y Muricina J, K y L (Moghadamtousi et al., 2015).

2.2.3.2. Fenoles

Los compuestos fenólicos son moléculas que estructuralmente presentan anillos aromáticos unido a un grupo hidroxilo (León-Fernández et al., 2021), estos compuestos bioactivos son de gran importancia ya que se consideran antioxidantes, debido a la capacidad de eliminar radicales libres; dentro de los fenoles más abundantes en el fruto podemos encontrar el ácido gálico, ácido clorogénico, ácido 4-hidroxibenzoico, ácido protocatequiico, ácido siríngico y el ácido elágico. Además de encontrar flavonoides como el kaempferol, epicatequina y quercetina. Por otro lado, se debe hacer mención de los carotenoides, que, aunque no entran dentro del grupo de los compuestos fenólicos, estos también se consideran importantes antioxidantes presentes en la guanábana, destacando la luteína, el tocotrienol y el tocoferol (Anaya y Moltalvo, 2020).

2.2.3.3. Alcaloides

Se trata de metabolitos secundarios que contienen nitrógeno, clasificados como isoquinolina, piridina, indol, piperidina y pirrol, de acuerdo con el tipo de anillo nitrogenado que contengan (Bhardwaj et al., 2020). Si bien es cierto que los alcaloides son compuestos bioactivos que abundan en las hojas de la guanábana, también se han aislado del fruto los derivados de las isoquinolinas como la anonaína, nornuciferina, asimilobina, N-metilcoculaurina y reticulina (Anaya y

Moltalvo, 2020), se ha demostrado que estos alcaloides desarrollan una actividad biológica de tipo antidepresiva debido a su participación en la biosíntesis de dopamina (Bhardwaj et al., 2020).

2.3. Fermentación

2.3.1. Generalidades

La fermentación es un proceso que tiene sus orígenes desde hace miles de años, cuando aún no se conocía su proceso bioquímico, era utilizada para la elaboración de bebidas alcohólicas y pan, principalmente. Fue hasta el año de 1857 cuando Louis Pasteur demostró que se trataba de un proceso que realizaban las células vivas (Maicas, 2020).

Hoy en día se sabe que la fermentación lleva a cabo un metabolismo catabólico, es decir, implica la transformación de compuestos orgánicos complejos en compuestos más simples, esto mediante la acción de enzimas producidos por microorganismos (Mannaa et al., 2021); dentro de dichos microorganismos encontramos a las bacterias como *Lactobacillus spp*., *Streptococcus spp*., *Enterococcus spp*., B*acillus spp*. y *Acetobacter spp*., levaduras como *Saccharomyces* spp. y *Pichia sp*p., y mohos como *Aspergillus oryzae*, *Penicillium roqueforti* y *Rhizopus spp* (Šikić et al., 2022).

La fermentación es vista como una tecnología rentable y versátil debido a que con ella se logra extender la vida útil de los alimentos (Teng et al., 2021), además de proporcionar otros beneficios como una mejora de las propiedades sensoriales, nutricionales y la eliminación de ingredientes dañinos o no deseados (Sharma et al., 2020).

2.3.2. Clasificación

Es importante diferenciar entre una fermentación espontánea y una inducida, la primera ocurre cuando existen las condiciones favorables para que los microrganismos propios del alimento sean capaces crecer y metabolizar los sustratos; mientras que la fermentación inducida requiere de la adición de cultivos denominados precisamente “iniciadores” debido a que van a generar un cambio

deseado en el sustrato, garantizando así la calidad y seguridad del alimento (Šikić et al., 2022).

Una de las clasificaciones que más se utiliza en la producción de alimentos es de acuerdo con la vía bioquímica, logrando identificar cuatro tipos de fermentación, láctica, acética, alcohólica y alcalina, tal y como se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3. Clasificación de los principales tipos de fermentación relacionados con la producción de alimentos.

Tipo	**Vía biosintética**	**Microorganismos responsables**	**Ejemplos de alimentos fermentados**
Láctica	Los azúcares se convierten en ácido láctico	Bacterias de ácido-lácticas	Yogurt y kimchi
Acética	Varios sustratos como alcoholes y azúcares que se convierten en ácido acético	Acetobacterias	Kéfir de agua y vinagre
Alcohólica	Los azúcares se convierten en alcoholes y CO_2	Levaduras	Vino y cerveza
Alcalina	Las proteínas se convierten en aminoácidos, péptidos y amoníaco	Bacilos *Staphylococcus spp*	Nattu japonés

Fuente: Mannaa et al., 2021.

En todo el mundo hay varios alimentos fermentados, provenientes de cereales, legumbres, tubérculos y frutas (Romero et al., 2017) pero de la gran variedad de productos, las bebidas representan un gran potencial en la industria de los alimentos, al ser consideradas como refrescantes y saludables (Morales et al., 2023).

2.4. Bebidas

2.4.1. Definición

Se consideran a las bebidas como todo aquel líquido que pueda ser utilizado para el consumo humano, incluida el agua (Rivera et al., 2008). Dicho así, dentro de este término se incluyen muchos ejemplos, como jugos de fruta, licores, vino, té, café, bebidas gaseosas, entre otros. Algo a destacar es que, algunas de estas bebidas han despertado el interés de muchos consumidores, ya que además de satisfacer sus necesidades de consumo de líquidos, son fuente importante de nutrientes y compuestos bioactivos, como las denominadas bebidas funcionales (Nazhand et al., 2020).

Las bebidas funcionales son bebidas no alcohólicas que contienen compuestos bioactivos (microorganismos probióticos, vitaminas, minerales, aminoácidos, prebióticos), los cuales brindan diversos beneficios a la salud humana (Jiménez, 2017). El mercado de consumidores se centra en distintos grupos de población como personas mayores, niños, deportistas o bien personas con inmunidad comprometida, entre otros (Gupta et al., 2023). Logrando clasificar las bebidas funcionales en tres categorías, como las bebidas elaboradas con frutas y verduras, las bebidas a base de lácteos y las bebidas deportivas y energéticas (Carvalho et al., 2023).

2.4.2. Bebidas elaboradas con frutas y verduras

Las frutas y verduras juegan un papel muy importante en la alimentación debido a que tienen un bajo contenido de calorías, proporcionan múltiples nutrientes como vitaminas, minerales, fibra dietética y compuestos bioactivos, este último es el que las hace un ingrediente muy importante en la elaboración de muchas bebidas funcionales. Además, se cree que el consumo de este tipo de bebidas puede reemplazar a las dietas ricas en azúcar o grasas saturadas, lo que a su vez puede prevenir enfermedades crónicas no transmisibles como la diabetes y la obesidad (Carvalho et al., 2023). Diversos trabajos e investigaciones han revelado que las bebidas funcionales vegetales no lácteas disponibles en el mercado exhiben niveles

de calcio equivalentes o superiores a los de la leche, además de proporcionar una cantidad mínima de sodio (Gupta et al., 2023).

Las bebidas funcionales a base de frutas y verduras son producidas mediante procesos de fermentación, donde se utilizan diversos microorganismos, esto suele estar relacionado con tendencias como el veganismo o el aumento de personas que sufren intolerancia a la lactosa o alergia a la proteína de leche de la vaca (Szutowska, 2020). Como se mencionó, las frutas y verduras son ricas en nutrientes esenciales, lo que las convierte en un excelente sustrato para el proceso de fermentación; dentro de las frutas más utilizadas se encuentran las uvas, granadas, fresas, cerezas y kiwis, mientras que los microorganismos predominantes son *Lactobacillus*, *Leuconostoc* y *Enterococcus*, aunque esto va a variar según la especie vegetal utilizada (Gupta et al., 2023). En la Tabla 4 se muestran algunos ejemplos de los diferentes microorganismos utilizados y el sustrato.

Tabla 4. Diferentes tipos de sustrato y microrganismo utilizados para el desarrollo de bebidas.

Sustrato	Microorganismo
Jugo de piña	*Lactobacillus casei, L. rhamnosus*
Cítricos	*Lactobacillus paracasei, Bifidobacterium infantis*
Jugo de manzana y carambola	*Lactobacillus plantarum, L. fermentum*
Jugo de uva	*L actobacillus plantarum , L. rhamnosus,L. fermentum y B. bifidum*
Jugo de arándanos y moras	*Streptococcus thermophilus, Bifidobacterium bifidum* y *Lactobacillus plantarum*
Jugo de kiwi	Levaduras y bacterias del ácido-láctico.
Jugo de yaca	*Lactobacillus casei*

Fuente: Manoj et al., 2023.

2.4.3. Bebidas a base de lácteos

En esta categoría se incluyen las bebidas enriquecidas con probióticos y/o prebióticos, dentro de las más comunes encontramos la leche fermentada o el

yogurt (Carvalho et al., 2023). Se ha estudiado que el hecho de utilizar prebióticos ha contribuido a mejorar la viabilidad de los probióticos; además, las bebidas fermentadas con *Lactobacillus spp.* y *Bifidobacterium spp*. otorgan ciertas características tecnológicas a las bebidas, como un aumento de la viscosidad y adición de propiedades antioxidantes (Gupta et al., 2023).

Por otra parte, se ha demostrado que los productos lácteos fermentados contribuyen al mantenimiento de la mucosa intestinal y ofrecen protección contra diversas enfermedades metabólicas, gracias a sus propiedades antioxidantes, antimicrobianas, antiinflamatorias y antifúngicas (Kaur et al., 2022) tal y como se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5. Aplicaciones de los productos fermentados y componentes que promueven la salud.

Matrices de alimentos	**Microorganismo**	**Compuestos que promueven la salud**	**Enfermedad**
Suero	*Lactobacillus rhamnosus*	Metabolitos liberados de probióticos.	Colitis ulcerosa
Leche desnatada	*Lactococcus lactis*	Péptidos inhibidores ACE 3 y GABA	Actividad antihipertensiva
Kéfir	*Lactobacillus lactis*, *Leuconostoc* spp., *Streptococcus thermophilus* y levadura de kéfir.	-	Enfermedad inflamatoria intestinal
Leche, yogur	Especies de *Lactobacillus* y *Bifidobacterias*	Folato, vitamina K, riboflavina	Deficiencia vitaminica

Leche	*L. acidophilus* y *L. casei*	-	Alivio de la intolerancia a la lactosa
Yogurt	*L. rhamnosus*	Ácidos grasos de cadena larga	Diarrea pediátrica aguda y asociada a antibióticos

Fuente: Kaur et al., 2022.

2.4.4. Bebidas deportivas y energéticas

El grupo de las bebidas deportivas se refiere a las bebidas que se consumen antes o durante el ejercicio debido a que tienen gran capacidad de rehidratación, al proporcionar carbohidratos, electrolitos como: sodio y el potasio, vitaminas y minerales (Carvalho et al., 2023). Por otra parte, las bebidas energéticas lo que buscan es revertir los efectos de agotamiento y mejorar la función cognitiva gracias a sus componentes como cafeína, aminoácidos y vitaminas. Algunos de los ingredientes funcionales que se utilizan tanto en la elaboración de bebidas deportivas como energéticas, son el guaraná, la yerba mate y el ginseng (Gupta et al., 2023).

2.5. Bacterias ácido-lácticas

2.5.1. Generalidades

Cuando hablamos de las bacterias ácido-lácticas, también conocidas como BAL, nos referimos a un grupo de microrganismos conformado por varios géneros bacterianos que comparten similitudes en su forma, metabolismo y funciones fisiológicas (Ramírez et al., 2007). Las BAL tiene la peculiaridad de generar ácido láctico como uno de sus principales productos de fermentación, resultado del metabolismo de los carbohidratos (Gomand et al., 2019).

Las BAL se presentan como cocos o bacilos, Gram positivos, presentan ciertas características como el de hecho de ser anaerobios, microaerofílicos o aerotolerantes, no esporulados, no móviles; oxidasa y catalasa negativa además no

reducen el nitrato a nitrito. La mayoría de las bacterias tiene un crecimiento óptimo a pH entre 4 y 4.5, pero algunas son ácido tolerantes pudiendo crecer en valores de pH tan bajos como 3; además para su multiplicación requieren de ciertos nutrientes como aminoácidos y vitaminas, sin olvidar a los azúcares como la glucosa y lactosa.

Este grupo de bacterias se encuentra extensamente distribuido en la naturaleza, ya que han sido aisladas del suelo, en ciertas plantas y en diversos alimentos, así como en el tracto digestivo y vagina de los mamíferos (Ramírez et al., 2007).

Dentro de las BAL se encuentran los siguientes géneros: *Aerococcus, Alloinococcus, Carnobacterium, Dolosigranulum, Enterococcus, Globicatella, Lactobacillus, Lactococcus, Lactosphaera, Leuconostoc, Oenococcus, Pediococcus, Streptococcus, Tetragenococcus, Vagococcus* y *Weisella*. Destacando como géneros representativos *Lactobacillus, Leuconostoc, Streptococcus, Bifidobacterium* y *Pediococcus*, donde con excepción de *Bifidobacterium*, todos son aeróbicos (Ramírez et al., 2007).

2.5.2. Clasificación

De acuerdo con su metabolismo, podemos clasificar a las BAL en homofermentativas y heterofermentativas. Las BAL homofermentativas al poseer la enzima aldolasa pueden convertir la glucosa exclusivamente en ácido láctico, a través de la vía de Embden-Meyerhof. Teniendo la capacidad de producir dos moles de ácido láctico por cada mol de glucosa (Abedi y Hashemi, 2020). Dentro de este grupo podemos encontrar los géneros *Lactococcus, Streptococcus*, *Pediococcus*, *Vagococcus* y algunos *Lactobacillus* (Martín del Campo et al., 2008). Los *Lactobacillus* spp. homofermentativos incluyen *L. delbruckii subsp. bulgaricus, L. acidophilus* y *L. helvético* (Abedi y Hashemi, 2020).

Mientras que las BAL heterofermentativas son capaces de formar un mol de ácido acético, uno de etanol y uno de CO_2 por cada mol de glucosa (Parra, 2010), debido a que pueden utilizar tanto la vía de fosfogluconato para metabolizar las hexosas, como la vía de la fosfocetolasa para metabolizar las pentosas (Abedi y Hashemi, 2020). Aquí se incluyen principalmente los géneros *Leuconostoc, Oenococcus,*

Weisella, Carnobacterium, Lactosphaera (Martín del Campo et al., 2008). Aunque también se consideran algunos *Lactobacillus* como *plantarum, ramnosus, coryneformis, curvatus, casei, paracasei, brevis* y *Leuconostoc* (Parra, 2010).

2.5.3. Importancia de las BAL en alimentos y bebidas

A lo largo de la historia, las BAL han estado muy relacionadas con el ser humano, gracias a los alimentos fermentados y a los efectos positivos que se les han atribuido, como la mejora en las propiedades sensoriales, la seguridad y la calidad de los productos (Lynch et al., 2018) de ahí que se conoce a las BAL como iniciadoras en la fabricación de productos de fermentación, siendo la mayoría reconocidas como seguras (GRAS); aunque últimamente han sido muy atractivas en el diseño de alimentos y bebidas funcionales debido al potencial probiótico (Gomand et al., 2019).

Como se mencionó, una de las aplicaciones más importantes de las BAL es su uso como cultivos iniciadores en diversos productos lácteos fermentados, debido a que utilizan los azúcares presentes en el alimento para producir ácidos orgánicos, provocando un descenso en el pH, lo que contribuye a la coagulación de proteínas y a la reducción del crecimiento microbiano. Así mismo, tienen un efecto en el desarrollo de características sensoriales deseables, por ejemplo al participar en la hidrólisis de proteínas se sintetizan compuestos como el acetaldehído o diacetilo que tiene la peculiaridad de dar sabor y aroma a los alimentos, además pueden producir exopolisacáridos que son considerados agentes texturizantes, aportando consistencia, también son capaces de producir componentes inhibitorios de otros microorganismos como las bacteriocinas, las cuales actúan como antimicrobianos, inhibiendo a microorganismos patógenos y evitando la descomposición de alimentos (Olvera et al., 2015).

2.6. Género *Lactobacillus* spp.

Se trata de un grupo de bacterias Gram positivas pertenecientes al filo *Firmicutes*, clase *Bacilli*, orden *Lactobacillales*, familia *Lactobacillacea* (Zheng et al., 2020), con forma de bacilos, no formadoras de esporas, generalmente inmóviles y que tienen

la capacidad de sobrevivir en ambientes tanto aerobios como anaerobios (Samaniego y Sosa del Castillo, 2006).

Este género se caracteriza por presentar un óptimo crecimiento a pH entre 5.5 y 6.2, siendo la mayoría mesófilos (30-40°C), aunque en realidad presentan un amplio rango de temperaturas para el crecimiento que va desde los 2°C hasta los 53°C. Además, son catalasa negativa, no producen indol ni ácido sulfhídrico y normalmente no reducen los nitratos a nitritos (Torvisco, 2014).

Lactobacillus es un género altamente diverso, de hecho, es el más extenso dentro de los géneros incluidos en las BAL con más de 261 especies reconocidas hasta el momento. Dentro de dichas especies es importante mencionar a *Lactobacillus acidophilus* (Zheng et al., 2020).

2.6.1. *Lactobacillus acidophilus*

Fue aislado en 1900 por Ernest Moro en el tracto gastrointestinal humano; su morfología típica es de bacilos Gram positivos con un tamaño de 2 a 10 µm, es decir pequeño, su crecimiento óptimo se logra a una temperatura entre 37 y 42°C con un pH de 5.5 a 6; se trata de una bacteria homofermentativa obligada que tiene la peculiaridad de ser una de las BAL menos tolerantes al oxígeno (Remes et al., 2020). *L. acidophilus* es una de las principales especies comerciales de las BAL (Remes et al., 2020) gracias a los múltiples beneficios que otorga a la salud del huésped, por lo que se ha convertido en un componente habitual en diversos productos, debido a su capacidad probiótica (Aval y Palva, 2005).

2.7. Probióticos

2.7.1. Generalidades

La OMS define a los probióticos como aquellos microorganismos vivos que cuando se administran en cantidades adecuadas logran ejercer un efecto beneficioso sobre la salud del hospedero (Olveira y González, 2016). Esta cantidad de microrganismos debe ser mayor a 10^6-10^8 UFC/g o mL (Sánchez et al., 2015).

Los microorganismos definidos como probióticos deben cumplir con ciertas características funcionales, de seguridad y tecnológicas. Dentro de las funcionales encontramos que deben ser microorganismos presentes en la microbiota intestinal, sobrevivir a pesar de las condiciones ácidas del estómago, tener un efecto antagonista frente a patógenos y ser capaz de potenciar las funciones inmunes y metabólicas (Usca et al., 2020); en los requerimientos de seguridad que deben cumplir se encuentra que, la cepa utilizada debe ser aislada de humanos sanos, no ser patogénica, ni toxigénica, no ser portadora de genes transmisibles con resistencia a antibióticos, carecer de la capacidad de producir metabolitos indeseables y carecer de factores de virulencia; por último en los aspectos tecnológicos a considerar destaca el hecho de contener un número adecuado de microrganismos viables que generen el efecto beneficioso, tener la seguridad de que la cepa permanece estable durante el almacenamiento y contar con una evidencia científica de la eficacia en seres humanos (Rondon et al., 2015).

Las principales especies de probióticos que se utilizan en la nutrición humana pertenecen a dos géneros, *Lactobacillus* y *Bifidobacterium,* aunque podemos encontrar otros microorganismos como los que se muestran a continuación en la Tabla 6.

Tabla 6. Microorganismos probióticos utilizados en la nutrición humana.

Tipo de lactobacilo	Tipo de bifidobacteria	Otras bacterias ácido-lácticas	Otros microorganismos
L. acidophilus [a]			
L. amylovorus [b]			
L. casei [a,b]	*B. adolescentis* [a]	*Enterococcus*	*Bacillus clausii* [a]
L. gasseri [a]	*B. animalis* [a]	*faecium* [a]	*Escherichia coli*
L. helveticus [a]	*B. bifidum* [a]	*Lactococcus*	Nissle 1917[a]
L. johnsonni [b]	*B. breve* [b]	*lactis* [b]	*Saccharomyces*
L.pentosus [b]	*B. infantis* [a]	*Streptococcus*	*cerevisiae*
L. plantarum [b]	*B. longum* [a]	*thermophilus* [a]	(boulardi)[a]
L. reuteri [a]			

L. rhamnosus [a,b]

[a] Se utiliza principalmente en productos farmacéuticos.
[b] Se utilizan principalmente en productos alimentarios.
Fuente: Remes et al., 2020.

2.7.2. Beneficios para la salud

Si bien es cierto que existe una relación entre la microbiota y la salud humana, también existen ciertos factores del estilo de vida como el tabaquismo, el consumo de alcohol y el ejercicio físico que suelen impactar en gran medida la composición y funcionalidad de la microbiota del tracto gastrointestinal; es aquí donde los probióticos juegan un papel muy importante ya que participan en la restauración de dicha microbiota, brindando así múltiples beneficios a la salud (James y Wang, 2019).

Otros de los beneficios de los probióticos, es que ayudan a prevenir trastornos metabólicos como la obesidad, diabetes o enfermedades cardiovasculares, disminuyen la resistencia a la insulina y la inflamación, mejoran los sistemas antioxidantes y reducen la absorción de colesterol; también presentan un impacto positivo al disminuir las enfermedades intestinales como la diarrea y el estreñimiento. Otros beneficios importantes de los probióticos incluyen la protección contra el cáncer de colon y vejiga, prevención de la osteoporosis y de alergias alimentarias como la intolerancia a la lactosa (Ayivi et al., 2020). Por otra parte, los probióticos están muy relacionados con una mejor biodisponibilidad de nutrientes, siendo capaces de sintetizar vitaminas como la K y las del grupo B, dentro de estas últimas se encuentra la biotina, cobalamina, tiamina, riboflavina, piridoxina y folato (James y Wang, 2019).

Es importante establecer la diferencia entre los probióticos y prebióticos, por lo cual a continuación se describen estos últimos.

2.8. Prebióticos

Los prebióticos se definen como ingredientes alimentarios no digeribles que tienen la capacidad de estimular selectivamente el crecimiento y/o actividad de bacterias propias del intestino, generando así un beneficio para la salud (Castañeda, 2018). Los prebióticos deben presentar resistencia a la absorción intestinal, ser fermentados o metabolizados por especies bacterianas del intestino grueso y generar un efecto modulador de la microbiota intestinal (Fuente, 2020).

La estructura molecular que presentan los prebióticos es la que hace que estos no puedan ser absorbidos en el intestino delgado debido a que no pueden ser hidrolizados por las enzimas digestivas, lo que provoca que pasen directamente al intestino grueso, donde son capaces de estimular el crecimiento de bifidobacterias y lactobacilos disminuyendo la presencia de coliformes, bacteroides y cocos (Gimeno, 2004).

Existen muchos tipos de prebióticos, aunque los más comunes comprenden fructanos, galactooligosacáridos y los oligosacáridos de leche humana.

2.8.1. Fructanos

Este grupo incluye a la inulina y los fructooligosacáridos (FOS), se trata de polímeros que se almacenan como carbohidratos de reserva en muchas plantas, cuya estructura consta de varias unidades de fructosa unidos a una glucosa; la diferencia es que la inulina presenta un grado de polimerización de hasta 60, mientras que el de los fructooligosacáridos es menor a 10 (Davani et al., 2019). Se ha demostrado que tanto la inulina como los FOS favorecen el crecimiento de bacterias beneficiosas como los lactobacilos y las bifidobacterias, pero también disminuyen microorganismos como los bacteroides y los clostridios (Corzo et al., 2015); además el consumo de este tipo de prebióticos está relacionado con una disminución de los niveles de triglicéridos, estimulación del sistema inmunológico y una mayor absorción de minerales a nivel intestinal (Peshev y Ende 2014), tal y como se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7. Efectos de los FOS e inulina en el cuerpo humano.

Efectos
Alivio del estreñimiento
Disminución de los niveles de glucosa en sangre
Reducción del pH del colón
Aumento de la producción de ácidos grasos de cadena corta
Prevención de la adhesión de microorganismos patógenos
Reducción de las especies reactivas de oxígeno (ROS)

Fuente: Peshev y Ende, 2014.

Los fructanos no solo son utilizados en la elaboración de productos alimenticios por los efectos beneficiosos que proporcionan, sino que también por las propiedades gelificantes y humectantes que presenta, además de ser aprovechados como sustitutos de azúcar en alimentos bajos en calorías (Hamdi et al., 2023).

2.8.2. Galactooligosacáridos (GOS)

Se trata de oligosacáridos que pueden ser obtenidos a partir de la lactosa del suero de queso o bien de forma natural en la leche humana y animal (Castañeda, 2018). Su estructura está compuesta por una unidad terminal de glucosa y de 2-10 moléculas de galactosa, diferenciándose entre sí de acuerdo con la longitud de la cadena y el tipo de enlace (Corzo et al., 2015), logrando identificar los α-galacto-oligosacáridos y β-galacto-oligosacáridos, estos últimos han sido los más empleados ya que son sintetizados a partir de la lactosa, a través de una reacción de transgalactosilación con ayuda de la enzima β-galactosidasa (Mei et al., 2022).

Los GOS se presentan como una sustancia incolora capaz de disolverse en el agua, con una consistencia similar al jarabe de maíz y cuyo nivel de dulzor es hasta 0.6 veces mayor que el azúcar de mesa (Mei et al., 2022). Respecto a las propiedades que presentan, estos son estables a altas temperaturas (hasta por arriba de 150°C) y a pH ácido; esto convierte a los GOS en ingredientes idóneos para la elaboración de diversos alimentos, como productos horneados, jugos de frutas, productos lácteos como el yogurt y helados e incluso han sido muy utilizados en las fórmulas

infantiles debido a que favorecen el crecimiento de lactobacilos y bifidobacterias (Ambrogi et al., 2021).

2.8.3. Oligosacáridos de leche humana (OLH)

Se han identificado en la leche materna más de 200 oligosacáridos, los cuales presentan variaciones en término de cantidad, tamaño y carga; estos oligosacáridos están compuestos de moléculas de glucosa y galactosa (Barile y Rastall, 2013), aunque también pueden contener varias unidades de N-acetil-glucosamina, fucosa y ácido siálico (Mollova et al., 2023).

Los oligosacáridos en leche humana se encuentran en una proporción de hasta 14 g/L (Corzo et al., 2015), aunque es el calostro se encuentran de 20 a 25 g/L; cabe mencionar que está cantidad varía entre las mujeres durante el periodo de lactancia, ya que conforme la producción de leche progresa, los niveles de oligosacáridos tienden a reducirse, además se ha observado que las madres que dan a luz de forma prematura, presentan concentraciones más elevadas de OLH, en contraste con las madres que completan su periodo de gestación (Mollova et al., 2023). Es así que los OLH juegan un papel muy importante en el lactante, debido a que promueven el crecimiento de microorganismos como *Firmicutes*, *Proteobacteria* y principalmente *Bifidobacterium* spp. además de brindar protección contra microorganismos como bacterias, virus, hongos y parásitos (Zhang et al., 2021).

2.9. Inulina

2.9.1. Generalidades

La inulina es un polisacárido no digerible cuyo nombre proviene de *Inula helenium,* planta de la cual se aisló por primera vez (Bernal et al., 2005). Su estructura consta de unidades de fructosa unidas por enlaces β-(2-1)-D-frutosilfructosa (Shoaib et al.,2016). En la Figura 1 se muestra la estructura química de la inulina, donde la letra “n” representa el número de fructosas.

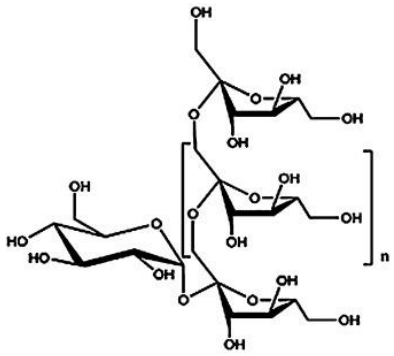

Figura 1. Estructura química de silla de la inulina. Tomada de Shoaib et al., 2016.

Este prebiótico se encuentra ampliamente distribuido en muchas plantas, vegetales, frutas y cereales; identificándose cerca de 36 000 especies de plantas con contenido de inulina entre las que destacan las *Liliaceae* como ajo, cebolla o espárragos y la *Compositae* que incluye a la achicoria y el yacón (Hernández et al., 2022). En la Tabla 8 se muestran algunas fuentes naturales de inulina.

Tabla 8. Plantas con contenido de inulina.

Fuente de inulina	Parte de la planta	Contenido de inulina (g/100 g)
Yacón (*Smallanthus sonchifolius*)	Raíces	35
Hoja Dulce (*Stevia rebaudiana*)	-	18-23
Ajo, ajo chino (*Allium sativum*)	Bulbo	14-23
Cebada (*Hordeum vulgare*)	Granos	18-20
Achicoria (*Cichorium intybus*)	Raíz	11-20
Alcachofa de Jerusalén (*Helianthus tuberosus*)	Tubérculo	12-19
Espárragos (*Espárragos sp*.)	Raíces	15
Agave (*Agave sp*.)	Piña	12-15
Diente de león *(Taraxacum officinale*)	Raíces	12-15
Dalia (*Dalia piñata cav*.)	Tubérculo	10-12
Suma (*glomerado de Pfalia*)	Raíces	11.45
Cebollas (Allium cepa)	Bulbo	5-9
Bardana (*Arctium sp*.)	Raíces	8.3-9.9

Fuente: Shoaib et al., 2016.

La inulina es un ingrediente muy versátil, cuyo nivel de dulzor es aproximadamente el 10% del de la sacarosa (Shoaib et al., 2016), de ahí que en la industria alimentaria es muy utilizada para modificar la textura o viscosidad de los alimentos. Aunque también es usada de forma particular en alimentos procesados como un sustituto de grasa en productos como: salsas, quesos, cárnicos, yogurt, chocolates (reduce el valor calórico); en productos de panadería por su capacidad de retener agua y en margarinas por ser un buen emulsificante (Arango et al., 2009).

Además del uso de probióticos y prebióticos en la elaboración de alimentos funcionales, uno de los ingredientes que se ha usado como sustrato para el crecimiento de probióticos es el suero de leche (Barukčić et al., 2019), a continuación, se discute su importancia.

2.10. Suero de leche

También denominado lactosuero, es un subproducto lácteo de color verde amarillento de sabor ácido agradable (Williams y Dueñas, 2021) obtenido de la separación del coágulo de la leche, mediante la acción ácida o por enzimas del tipo cuajo (como la renina), esto durante la fabricación de queso (Poveda, 2013). El lactosuero constituye alrededor del 90% del volumen total de la leche, conteniendo la mayor parte de los componentes solubles en agua, tales como carbohidratos, minerales, vitaminas hidrosolubles y proteínas solubles (Chacón et al, 2017).

Dependiendo de la técnica de procesamiento que se utilice se reportan dos tipos de suero, el ácido y el dulce. El suero ácido, como su nombre lo indica se obtiene por la adición de ácidos orgánicos o minerales para coagular la caseína, teniendo un pH de 4.3 a 4.6. El suero dulce es cuando la coagulación de la caseína se da por acción enzimática al utilizar el cuajo, con un pH de 5.9 a 6.6 (Williams y Dueñas, 2021; Barukčić et al., 2019). La Tabla 9 muestra la composición del suero de leche dulce y ácido.

Tabla 9. Composición del suero de leche dulce y ácido.

Componente	Lactosuero dulce (g/L)	Lactosuero ácido (g/L)
Sólidos totales	63.0 – 70.0	63.0 – 70.0
Lactosa	46.0 – 52.0	44.0 – 46.0
Proteína	6.0 – 10.0	6.0 – 8.0
Calcio	0.4 – 0.6	1.2 – 1.6
Fosfatos	1.0 - 3.0	2.0 – 4.5
Lactato	2.0	6.4
Cloruos	1.1	1.1

Fuente: Parra, 2009.

3. JUSTIFICACIÓN

En los últimos años ha existido en la industria alimentaria un marcado interés por los denominados “alimentos y bebidas funcionales” debido al contenido de compuestos bioactivos, los cuales generan múltiples efectos positivos en la salud del individuo independientemente del valor nutricional propio del alimento. Dichos compuestos bioactivos provienen principalmente de frutas y verduras, un claro ejemplo es la guanábana la cual contiene fenoles, flavonoides y carotenos; además tiene fibra dietética y azúcares reductores, sustratos útiles para los procesos fermentativos.

Por otro lado, un ingrediente funcional importante para el desarrollo de bebidas son los microorganismos con potencial probiótico, que confieren además de beneficios al humano, características sensoriales deseables. A pesar de ello, las BAL pueden verse afectadas durante el procesamiento o almacenamiento, por lo que se ha observado que el uso de prebióticos en alimentos ayuda a la sobrevivencia de las BAL, prolongando así la supervivencia durante el tracto gastrointestinal para llegar al sitio de colonización y durante el almacenamiento.

Es así que este proyecto tiene como objetivo desarrollar bebidas fermentadas a base de guanábana, adicionada con bacterias ácido-lácticas e inulina.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General

Elaborar una bebida fermentada a base de guanábana (*Annona muricata L*.), *Lactobacillus acidophilus,* e inulina.

4.2. Objetivos Específicos

- Realizar el análisis fisicoquímico, bromatológico y de compuestos bioactivos en guanábana liofilizada.
- Formular bebidas con guanábana, suero de leche e inulina, fermentadas con *Lactobacillus acidophilus* y evaluar su aceptación sensorial.
- Determinar la población de *L. acidophilus*, compuestos fenólicos, capacidad antioxidante y análisis bromatológico en las bebidas fermentadas.
- Seleccionar la bebida de mayor aceptación sensorial y evaluar la viabilidad del probiótico, la estabilidad de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante durante el almacenamiento.

5. DIAGRAMA DE TRABAJO

El esquema de trabajo que se utilizó en la realización de este proyecto se muestra en la Figura 2 y se describe con más detalles en la metodología.

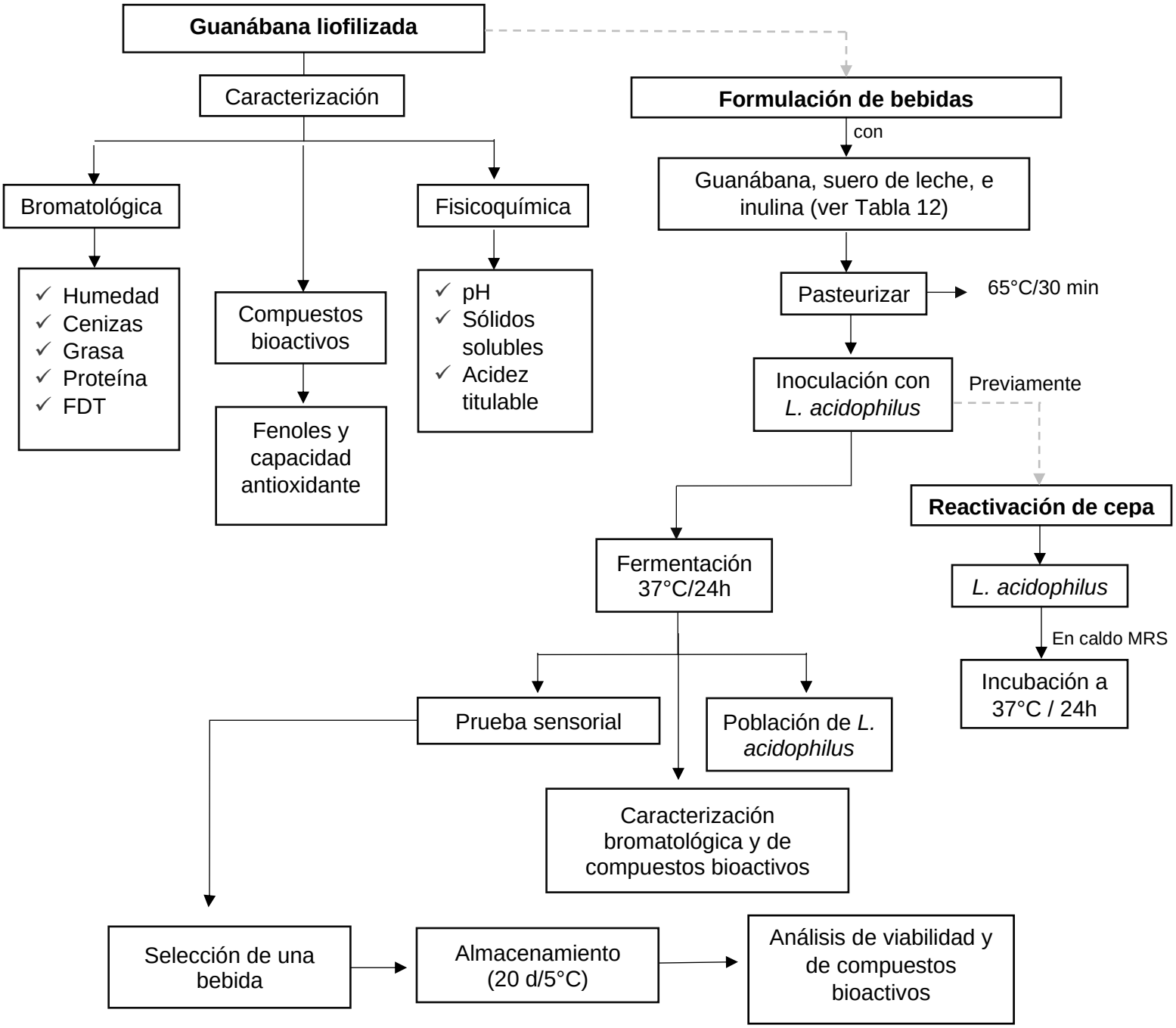

Figura 2. Esquema de la metodología que se siguió.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

- Material de vidrio: el necesario para cada determinación.
- Material biológico: Guanábana liofilizada (*Annota muricata L.*); cultivo de *Lactobacillus acidophilus*; suero de leche; inulina; edulcorante.
- Reactivos: Los necesarios para cada determinación.

A continuación, en la Tabla 10 se muestran las técnicas que se utilizaron y en la Tabla 11 los equipos con los que se trabajó.

Tabla 10. Métodos y referencias.

Determinación	Técnica	Referencia
Acidez titulable	Volumétrica	NMX-F-102-NORMEX-2010
Bacterias ácido-lácticas	Vertido en placa	NOM-092-SSA1-1994
Sólidos solubles	Refractometría	NMX-F-103-NORMEX-2009
Capacidad antioxidante	Espectrofotometría (DPPH)	Correa et al., 2012
Ceniza	Calcinación en mufla	AOAC, 2000
Compuestos fenólicos	Método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu	Correa et al., 2012
Fibra dietética	Método gravimétrico-enzimático	AOAC, 2000
Grasa	Método de Soxhelt	AOAC, 2000
Humedad	Secado en estufa	AOAC, 2000
pH	Potenciometría	NOM-F-317-S-1978
Proteína	Método de Kjeldahl	AOAC, 2000

Tabla 11. Equipos que se utilizaron.

Equipo	Marca	Modelo
Analizador ultrasónico de leche	LACTOSCAN	-
Autoclave	CISA	AS-25
Balanza analítica	Ohaus – Serie Pioneer	PA 224C
Baño de agua	Barnstead Lab-Line	18005AQ
Contador de colonias	SOL-BAT	Q-20
Espectrofotómetro	Spectronic	20 Genesys
Incubadora orbital	Prendo	INO-650
Parrilla digital	Fisher Scientific	Isotemp
Potenciómetro	Conductronic	PH10
Refractómetro digital	HANNA instruments	Hi 96801
Refrigerador	MABE	RMT510

7. METODOLOGÍA

7.1. Caracterización fisicoquímica de guanábana liofilizada

La caracterización fisicoquímica se realizó preparando una solución acuosa al 5% con el polvo de guanábana liofilizada que posteriormente se analizó.

7.1.1. pH

Se colocó el electrodo en la solución y se registró la lectura de equipo, la determinación se hizo a temperatura ambiente.

7.1.2. Sólidos solubles

Se colocó unas gotas de solución de guanábana sobre el equipo y se registró la lectura, la determinación se hizo a temperatura ambiente.

7.1.3. Acidez

Se tomó una alícuota de la solución, la cual se valoró con NaOH 0.1 N y fenolftaleína como indicador.

7.2. Caracterización bromatología de guanábana liofilizada

7.2.1. Humedad

La humedad se determinó por el método de secado en estufa. Se colocó la guanábana liofilizada en charolas de aluminio (las cuales fueron colocadas previamente a peso constante), después se llevaron a la estufa a 105°C durante 4h, transcurrido el tiempo se enfriaron en el desecador y se procedió a registrar el peso.

7.2.2. Cenizas

Se realizó por calcinación en mufla a 500°C. Se colocó la guanábana liofilizada en un crisol puesto a peso constante, con un mechero se carbonizó lentamente hasta tomar un color negro, cuando cesó el desprendimiento de humo, se pasó a la mufla a una temperatura de 500°C y se mantuvo durante 5 h hasta que se observó un residuo de color blanco. Se transfirió el crisol al desecador y se pesó.

7.2.3. Grasa

Se determinó en un equipo de Soxhelt, donde se utilizó éter de petróleo como disolvente y se expresó el resultado como % de grasa.

7.2.4. Proteína

Se hizo la determinación por el método de Kjeldahl, el cual consistió de cuatro etapas: digestión, neutralización, destilación y titulación. La primera etapa consistió en digerir la guanábana liofilizada con la mezcla digestora (sulfato de cobre con sulfato de potasio) y H_2SO_4 concentrado; posteriormente se llevó a cabo la neutralización con NaOH al 40%, en presencia de ácido bórico y rojo de metilo como indicador (destilación), para finalmente hacer la titulación con HCI 0.1 N.

7.2.5. Fibra dietética

Se mezcló el polvo de guanábana con buffer de fosfatos y la enzima α-amilasa, se colocó en baño de ebullición durante 15 min. Transcurrido el tiempo, se ajustó el pH a 7 por adición de NaOH, se agregó la enzima proteasa y se incubó a 60°C por 30 min, se volvió a ajustar el pH a 4.5 con HCI y se agregó la enzima amiloglucosidasa llevando nuevamente a 60°C. Posteriormente, se realizó una precipitación con etanol al 95% precalentado a 60°C, y se dejó reposar durante 24 h a temperatura ambiente. Se filtró el precipitado y se realizaron lavados con etanol al 95%, etanol al 68% y acetona. Finalmente, el residuo obtenido se dejó secar 24 h, se analizó el contenido de proteína y de cenizas como se describió anteriormente.

7.2.6. Carbohidratos

Los carbohidratos se determinaron por diferencia de 100 respecto a los compontes anteriormente determinados (humedad, cenizas, grasa, proteína, fibra dietética).

7.3. Determinación de compuestos bioactivos de guanábana liofilizada

7.3.1. Compuestos fenólicos

Se preparó una solución acuosa al 1% con la guanábana liofilizada, se tomó una alícuota y se adicionó 1 mL del reactivo Folin-Ciocalteau (0.1 N), se dejó reposar durante 3 min a temperatura ambiente y después se añadió 1 mL de $NaCO_3$ (0.05%), la mezcla se dejó reposar por 30 min y finalmente se hizo la lectura en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 765 nm. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico EAG/100 g.

7.3.2. Capacidad antioxidante

Se preparó una solución acuosa al 1% con la guanábana liofilizada, se tomó una alícuota y se adicionó 1 mL del reactivo DPPH al 0.004%, se mezcló, se mantuvo en reposo durante 30 min. Transcurrido el tiempo se leyó la absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 517nm. Los resultados se expresaron como mg Trolox/100 g.

7.4. Reactivación de la cepa

Se llevó a cabo en caldo MRS previamente esterilizado, el cual se inoculó *con L. acidophilus* al 1%, posteriormente se llevó a incubación por 24 h a 37°C. Se obtuvo una población de $1x10^8$ UFC/mL.

7.5. Formulación de bebidas

Se elaboraron un total de cinco sistemas de acuerdo con la Tabla 12. Posteriormente, se pasteurizaron a 65°C durante 30 min, se dejaron enfriar y se inocularon con *Lactobacillus acidophilus* al 1%, se incubaron durante 24 h a 37°C, con agitación de 50 rpm. Al término de la incubación, las bebidas se colocaron en refrigeración a 5°C hasta su análisis.

Tabla 12. Formulación de bebidas con guanábana liofilizada, suero de leche e inulina.

Sistema	Suero de leche (2%)	Guanábana (2%)	Inulina (1%)	Agua
1	X			X
2	X		x	X
3	X	X		X
4		X	x	X
5	X	X	x	X

Cada sistema se adicionó con edulcorante Stevia 0.5 g por cada 100 mL.

7.6. Prueba sensorial de las bebidas fermentadas

Se aplicó una prueba de tipo hedónico de 7 puntos (1 = me disgusta mucho y 7 = me gusta mucho). Se colocaron 10 mL de cada bebida fría (5 - 8 °C) y se les pido a

los consumidores que evaluarán el color, olor, sabor y aceptación en general de los cinco sistemas, las encuestas se realizaron a 50 personas en las instalaciones de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Los criterios de inclusión fueron: el consumo de bebidas lácteas fermentadas, edad de 18-25 años, sexo indistinto, nivel de escolaridad (licenciatura).

7.7. Caracterización bromatológica de las bebidas fermentadas

Se determinó el contenido de agua, grasa, proteína y cenizas, utilizando el analizador ultrasónico de leche, LACTOSCAN. Se colocaron 20 mL de cada bebida en el equipo, se hizo la succión de la muestra y se tomó la lectura del equipo, la medición se hizo a temperatura ambiente.

La determinación de fibra dietética se llevó acabo como se describió en el apartado 7.2.5, solo que se tomó 1 mL de cada bebida.

7.8. Población de *L. acidophilus* en las bebidas fermentadas

Se realizó el recuento de la población de *L. acidophilus* en cada bebida. Se tomó 1 mL de muestra, se hicieron las diluciones necesarias con agua peptonada (0.1%), hasta lograr un recuento entre 50 y 300 UFC/mL. Se utilizó el método de vertido en placa Petri, se utilizó agar MRS. Las cajas fueron incubadas a 37°C durante 24 h en anaerobiosis. Finalmente se realizó el conteo de la población y los resultados fueron expresados como UFC/mL.

7.9. Determinación de compuestos bioactivos de bebidas fermentadas

Se llevó a cabo la determinación de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de las 5 bebidas elaboradas. Se realizó el procedimiento descrito en el apartado 7.3.1 y 7.3.2. Se trabajó directamente con cada una las bebidas elaboradas.

7.10. Evaluación durante el almacenamiento

La bebida de mayor aceptación sensorial, se mantuvo en refrigeración a 5°C, durante 20 d, se realizó el análisis de la viabilidad de *L. acidophilus* siguiendo el procedimiento descrito en el apartado 7.8, se determinaron los compuestos fenólicos y capacidad antioxidante siguiendo el procedimiento descrito en el apartado 7.3.1 y 7.3.2. Todas las determinaciones se realizaron cada 5 días.

7.11 Análisis estadístico

Todas las determinaciones se hicieron por duplicado y cada procedimiento se llevó a cabo dos veces. Los resultados obtenidos fueron analizados mediante una comparación de medias (ANOVA), usando el software de Minitab v15, empleando la prueba de Tukey con un nivel de confianza de $\alpha = 0.05$.

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1. Caracterización fisicoquímica y bromatológica de guanábana

Los parámetros fisicoquímicos evaluados en la guanábana liofilizada se muestran en la Tabla 13, se muestra que la guanábana es un fruto ácido debido a que su pH fue menor a 4, generalmente las frutas se encuentran dentro de la clasificación de alimentos ácidos, debido a la presencia de ácidos orgánicos, en la guanábana el ácido que abunda es el ácido málico (Etienne et al., 2013). También se observa que es una fruta con alto contenido de sólidos solubles, cuyo valor fue de 96/100g muestra, este valor se refiere a los sólidos secos presentes en la guanábana y se relaciona con el valor de humedad obtenido, que fue de 4.86%, este parámetro es importante porque los alimentos en polvo deben tener bajos contenidos de humedad para que puedan conservarse.

Por otro lado, como era de espera en el caso de las frutas, los valores de proteína, grasa y ceniza son bajos, generalmente son menores al 1%, mientras que los carbohidratos son los que se encuentran en mayor proporción, cuyo valor tiene similitud con los sólidos solubles obtenidos en la caracterización fisicoquímica, algunos de los carbohidratos que pueden estar presentes son los carbohidratos simples. Anaya y Montalvo (2020), reportan información respecto a la composición nutricional del fruto de guanábana encontrando valores en proteína de 5.34%, grasa de 3.99%, ceniza de 17.21% y de igual modo gran cantidad de carbohidratos con el 74.02%, aunque existe una variación con los parámetros obtenidos, se debe tomar en cuenta que en este trabajo se utilizó polvo de guanábana liofilizado y no la fruta fresca, además de que los valores pueden ser variables dependiendo el origen de la muestra, tiempos de cosecha, entre otros factores.

Tabla 13. Caracterización fisicoquímica y bromatológica de pulpa de guanábana liofilizada.

Parámetro	Valores
pH	3.44 ± 0.02
Acidez (% ácido málico)	0.02 ± 0.00
Sólidos solubles (g/100 muestra)	96 ± 0.00

Humedad (%)	4.86 ± 0.14
Cenizas (% bs)	0.32 ± 0.01
Grasa (% bs)	1.00 ± 0.04
Proteína (% bs)	0.52 ± 0.00
Carbohidratos*	93.30 ± 0.01

*Los carbohidratos fueron determinados por diferencia

8.2. Compuestos funcionales de guanábana

En la Tabla 14 se puede observar los compuestos funcionales que presentó la guanábana, los cuales corresponden a fibra dietética, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante. La fibra es un componente importante, que ayuda a proteger la salud gastrointestinal del colón, además otorga efectos positivos importantes en la salud como es prevención de enfermedades cardiovasculares y diabetes tipo 2. Algunas frutas en estado fresco como: guayaba, piña, frambuesas y moras, contienen una buena cantidad de fibra cuyo valor se encuentra entre el 5 - 20%, aunque las frutas secas o deshidratadas (albaricoque y ciruela pasa), tienen contenidos de fibra <10% (Dreher, 2018). En los resultados obtenidos de fibra dietética, la guanábana presentó un valor de 2.4 %, por lo que, se puede considerar como una fruta con aporte bajo de fibra comparada con otras frutas.

Respecto a los compuestos fenólicos (CF), estos metabolitos son muy importantes debido a que pueden atenuar el daño oxidativo; ya sea de manera indirecta, al activar las defensas celulares, o directamente, al eliminar radicales libres. El valor de CF de la guanábana es presentado en la Tabla 14 y es mayor al reportado por Leite et al. (2019) que fue de 158.95 mg de EAG/100 g, quienes trabajaron con pulpa de guanábana secada por aspersión. Márquez (2009) menciona que la concentración de CF depende de factores cómo: la variedad, la estacionalidad, estado de salud de la fruta, métodos de almacenamiento en postcosecha y estado de madurez, así como del solvente utilizado en el proceso de extracción del análisis. En cuanto a la capacidad antioxidante se obtuvo un valor de 1130 mg Trolox/100 g. Leite et al. (2019) reportaron que la guanábana seca por aspersión contiene 830.06 µM de Trolox/g, muy por encima del nuestro que fue de 45.2 µM de Trolox/g; si bien existe diferencia de los valores obtenidos, esto se puede deber a factores como la

metodología utilizada, la etapa de madurez y origen de la fruta, o bien la procedencia del polvo, entre otros.

Tabla 14. Compuestos funcionales pulpa de guanábana liofilizada.

Parámetro	Valores
Fibra dietética total (%)	2.41 ± 0.36
Compuestos fenólicos (mg EAG/100 g)	352.33 ± 14.39
Capacidad antioxidante (mg Trolox/100 g)	1130.36 ± 18.25

8.3. Población de *Lactobacillus* en las bebidas de guanábana

La Figura 3 presenta el crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* en los sistemas formulados con guanábana, suero de leche e inulina, donde se puede observar que la composición de los sistemas tuvo una influencia sobre el crecimiento de este microorganismo, ya que hay diferencia estadística significativa ($p<0.05$). Se observa que, de todos los sistemas, el que generó el mayor crecimiento fue el sistema 5, el cual estaba adicionado con suero de leche, inulina y guanábana liofilizada, estos ingredientes son fuente de azúcares (provenientes de la guanábana), ingredientes prebióticos como la inulina y fuentes proteica como el caso del suero de leche. De forma general, se recomienda que la incorporación de organismos probióticos dentro de alimentos debe ser mínimo de 10^6 UFC/mL o g (Zommiti et al., 2020), es por ello que a pesar de que existe una diferencia estadística significativa, todos los sistemas fueron útiles para que el microorganismo creciera. White y Hekmat (2018) incorporaron *Lactobacillus rhamnosus* en una bebida con jugo de uva y de igual modo alcanzaron un recuento de 7 ciclos logarítmicos, aunque en este trabajo el recuento fue ligeramente superior a los 7 ciclos logarítmicos, lo cual podría indicar que los nutrientes adicionados en las bebidas fueron aprovechados por el microorganismo.

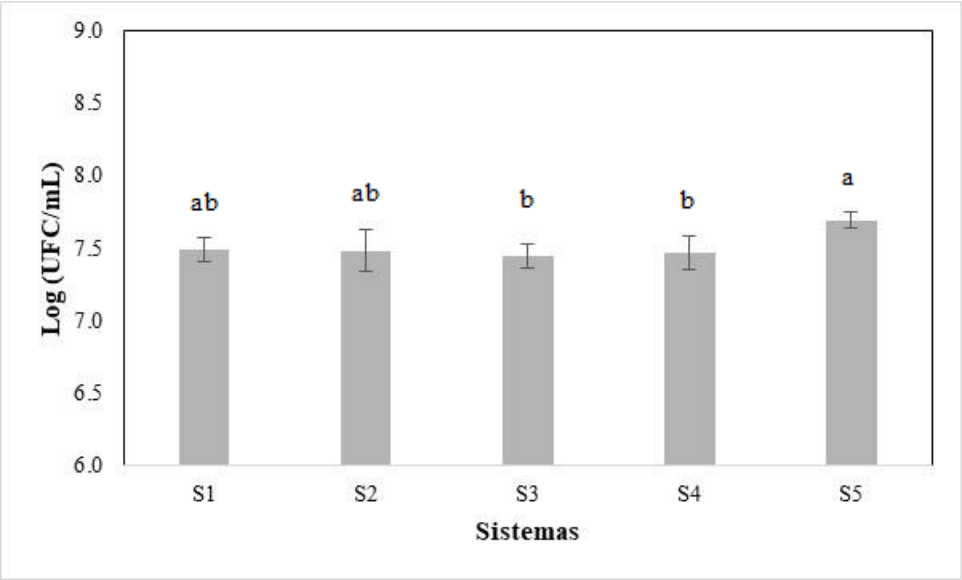

Figura 3. Crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* en las bebidas formuladas con guanábana, suero de leche e inulina.

8.4. Evaluación sensorial de bebidas fermentadas

En la Tabla 15 se muestran los resultados obtenidos de la evaluación sensorial de las bebidas fermentadas a las cuales se les evaluó el color, olor, sabor y aceptación en general. Se observa que no existe diferencia estadística significativa ($p>0.05$) en los atributos evaluados; esto podría deberse a que la guanábana y el resto de los ingredientes como el suero y la inulina al ser compuestos de una tonalidad blanca, no permitieron una diferencia significativa con respecto al color, por otro lado el que algunos sistemas hayan estado adicionados con guanábana, su aceptación de agrado se debe a que esta es un fruta con sabor agridulce lo cual permitió también se aceptabilidad. A pesar de esto se eligió el sistema 5, porque fue la debida que contenía en su formulación más ingredientes funcionales como la guanábana, el suero de leche y la inulina; esta bebida fue la que se analizó durante el almacenamiento y se realizó la determinación de los compuestos fenólicos, capacidad antioxidante y la viabilidad de *L. acidophilus.*

Tabla 15. Evaluación sensorial de las bebidas fermentadas con *L. acidophilus.*

	Atributos			
Sistema	**Color**	**Olor**	**Sabor**	**Aceptación general**
1	4.32 ± 0.86a	4.44 ± 1.11a	3.96 ± 1.38a	4.14 ± 1.16a
2	4.42 ± 0.97a	4.70 ± 1.13a	4.56 ± 1.49a	4.58 ± 1.28a
3	4.76 ± 1.04a	4.92 ± 1.78a	4.48 ± 1.81a	4.64 ± 1.65a
4	5.22 ± 0.93a	4.56 ± 0.97a	4.80 ± 1.26a	4.86 ± 1.19a
5	4.64 ± 1.15a	4.70 ± 1.53a	4.12 ± 1.62a	4.48 ± 1.40a

[a]Promedio ± desviación estándar. Letras diferentes en columna indican diferencia significativa α = 0.05.

8.5. Caracterización bromatológica de las bebidas fermentadas

La composición bromatológica de las bebidas con suero, inulina, guanábana y probióticos es presentada en la Tabla 16, se observa que existe variabilidad de los componentes analizados (agua, proteína, grasa, cenizas y fibra dietética), respecto a la formulación de sistemas. Siendo los de mayor interés el agua, la fibra dietética, proteínas y cenizas, en este sentido, el agua es el principal componente de las bebidas y es el ingrediente que más abundo en las bebidas elaboradas en este trabajo (96-98%), además de la presencia de cenizas, estas representan la cantidad de minerales y precisamente las bebidas en general se caracterizan por tener minerales. Como podemos observar los sistemas que presentaron mayor contenido de cenizas fueron el 5 y el 3, esto se debe a que en su formulación contienen tanto guanábana como suero de leche, los cuáles son ricos en minerales, en el caso particular de la guanábana, esta contiene potasio, magnesio, cobre, hierro, fósforo, calcio, sodio y zinc (Akomolafe y Ajayi, 2015), mientras que el suero contiene calcio, potasio, fósforo, sodio y magnesio (Poveda, 2013). Rodríguez y Hernández (2017) reportaron un valor de cenizas de 0.027% en una bebida de pulpa de guanábana, fermentada con probióticos, aloe vera y suero de leche; este valor es menor al obtenido en la bebida 5, que es la que presentó el mayor contenido de ceniza.

Otro componente importante de las bebidas elaboradas es la proteína, los valores obtenidos fueron de 0.8 – 2 % (sistemas 1, 2, 3 y 5), el suero es un ingrediente de

alta calidad, debido a la presencia de lactoglobulinas con presencia de aminoácidos esenciales como triptófano y cisteína. Resultados similares del contenido de proteínas en bebidas fueron reportados por Rodríguez y Hernández (2017), presentando 1.06 ± 0.02% de proteína.

Por otro lado, las bebidas elaboradas presentaron fibra dietética, que como se mencionó anteriormente, este es un ingrediente funcional. La fibra dietética es aportada por la guanábana, en el mercado existen productos comerciales como las bebidas de soya con pulpa de guanábana (Ades), que reportan 0.2% de fibra dietética, en este trabajo el valor es 10 veces más que el reportado, esto hace que este alimento contenga un valor agregado.

Tabla 16. Composición bromatológica de bebidas fermentadas con *L. acidophilus*[a].

	Sistemas				
	S1	S2	S3	S4	S5
Agua (%)	97. 83 ± 0.01a	96.92 ± 0.07b	95.86 ± 0.03c	96.82 ± 0.02b	94.97 ± 0.03d
Grasa (%) bh	0.07 ± 0.00c	0.09 ± 0.00c	0.18 ± 0.01a	0.14 ± 0.01b	0.18 ± 0.01a
Proteína (%) bh	0.80 ± 0.01d	1.16 ± 0.00c	1.47 ± 0.00b	0.16 ± 0.00e	1.92 ± 0.01a
Cenizas (%) bh	0.12 ± 0.00d	0.18 ± 0.00c	0.23 ± 0.00b	0.02 ± 0.00e	0.29 ± 0.01a
FDT (%)	1.64 ± 0.04	2.52 ± 0.14a	1.25 ± 0.11c	2.72 0.00b	1.26± 0.01c

[a]Promedio ± desviación estándar. Letras diferentes en fila indican diferencia significativa α = 0.05.

8.6. Compuestos fenólicos y capacidad antioxidantes en las bebidas fermentadas

Como se puede observar en la Figura 4, el valor de los compuestos fenólicos de las bebidas fermentadas y adicionadas con suero, inulina y guanábana fue de 6.39 a 457.33 mg EAG/100 mL, siendo mayor en la bebida número 5, como era de esperase la bebida del sistema 1 y 2 tienen un contenido de fenoles muy bajo, menor a 10 mg EAG/100 mL, esto se debe a que en su formulación no llevaba guanábana, en cambio los sistemas 3, 4 y 5 si contienen guanábana, por lo que, presentaron una buena cantidad de compuestos fenólicos, que van de los 130 a los 460 mg EAG/100 mL. Paitan-Anticona et al. (2022) elaboraron néctares con pulpa de guanábana de 3 ecotipos y lactosuero obteniendo valores de 38.48 a 52.12 mg

EAG/100 mL. Por otro lado, Scharff (2021) elaboró una bebida que contenía guanábana, granidilla y camu camu donde obtuvieron un valor de 218.98 mg EAG/100 mL, como se puede analizar los valores reportados por ambos autores son menores a los obtenidos con el sistema 5, esta diferencia puede deberse a la formulación de las bebidas y probablemente a los métodos aplicados.

En la Figura 5 se muestra la capacidad antioxidante que presentó cada una de las bebidas elaboradas, donde nuevamente el sistema 5 fue el que presentó una mayor capacidad antioxidante con un valor de 1013.07 mg Trolox/100 mL, mientras que los sistemas 1 y 2 tuvieron muy poca capacidad antioxidante, siendo menor a 20 mg Trolox/100 mL, lo cual podría deberse al proceso de fermentación y al aprovechamiento de los compuestos bioactivos presentes en la guanábana. Fessard et al. (2017) mencionaron que algunas especies de *Lactobacillus spp*. puede aumentar o reducir la capacidad antioxidante tras la fermentación, debido a la presencia de enzimas como la β-glucosidasa, tanasa, o descarboxilasa.

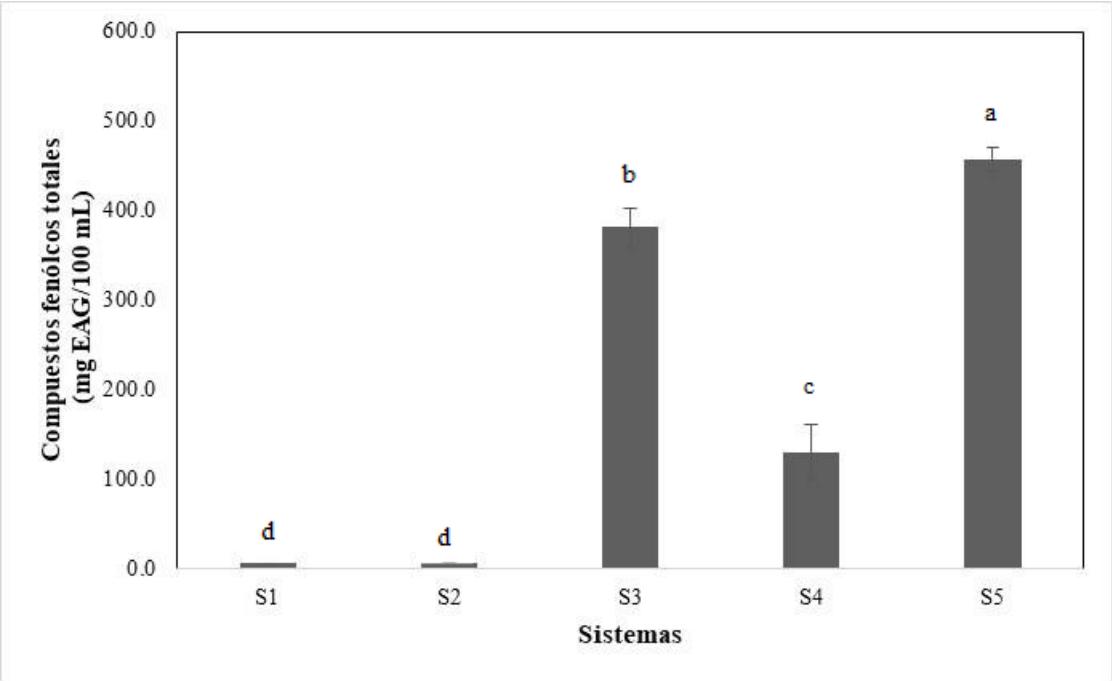

Figura 4. Compuestos fenólicos de las bebidas fermentadas con *L. acidophilus.*

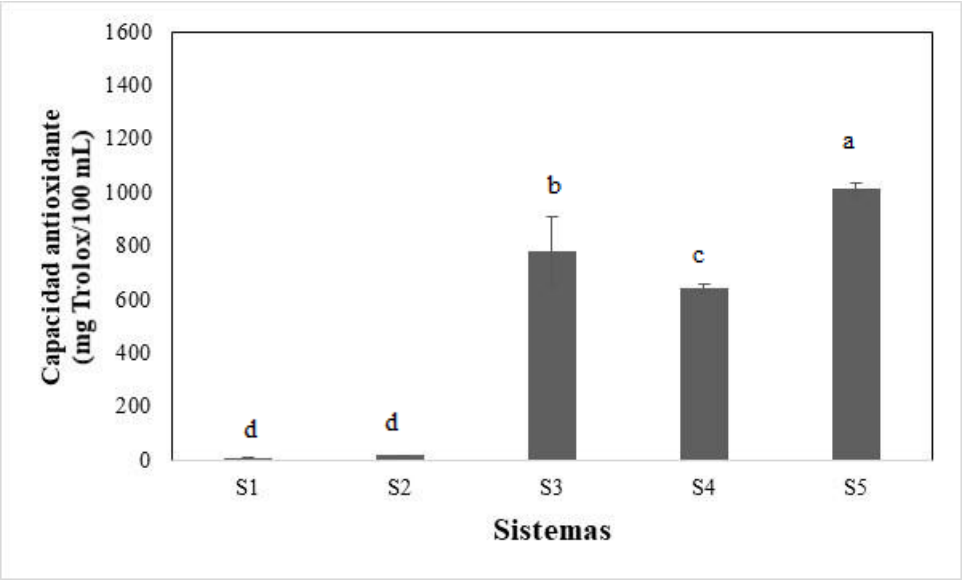

Figura 5. Capacidad antioxidante de las bebidas fermentadas con *L. acidophilus.*

8.7. Efecto del almacenamiento sobre la viabilidad de *L.* acidophilus, los compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de bebida fermentada

Como se mencionó anteriormente en el punto 8.4. La bebida que se seleccionó para su evaluación durante el almacenamiento fue el sistema 5. La Tabla 17 muestra la viabilidad de *L. acidophilus*, así como el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante durante un periodo de 20 días de almacenamiento. Respecto a la viabilidad, se observa que, aunque hay diferencias significativas ($p<0.05$) durante el almacenamiento, se logró mantener la viabilidad de *L. acidophilus* por arriba de 6 ciclos logarítmicos, lo cual puede deberse sobre todo a la adición de inulina, esta es un prebiótico que actúa como alimento para los probióticos, fomentando su crecimiento y viabilidad (Rastall y Gibson, 2015).

Por otro lado, respecto al contenido de compuesto fenólicos estos disminuyeron durante el almacenamiento en un 32 %, el valor de 440 mg EAG / 100 mL de la bebida se considera significativo, tomando en cuenta que algunos autores como Sena y Akanb (2021) tuvieron valores de 1.45 mg EAG / 100 mL después de 21 d de almacenamiento en una bebida láctea probiótica elaborada con *L. acidophilus* y frutos de frambuesa.

Respecto a la capacidad antioxidante durante el almacenamiento, está incrementó hasta cinco veces su valor inicial (inicio del almacenamiento). Como se comentó anteriormente, algunas especies *de Lactobacillus* spp. puede aumentar o reducir la capacidad antioxidante, debido a la presencia de enzimas (Fessard et al., 2017), además, la capacidad antioxidante comprende otros metabolitos que en este trabajo no se evaluaron, como los flavonoides los cuales probablemente influyeron en el incremento de la capacidad antioxidante.

Marnpae et al. (2022) mencionan que la capacidad antioxidante en bebidas fermentadas con probióticos y frutas aumenta durante el almacenamiento, derivado de una biotransformación de metabolitos, que incluye la transformación de fenoles complejos a sus formas libres. Liu et al. (2018) reportan resultados similares sobre el aumento de licopeno y la capacidad antioxidante para jugo de tomate fermentado con *L. plantarum* o *L. casei.*

Tabla 17. Efecto del almacenamiento sobre la viabilidad de *L. acidophilus*, los compuestos fenólicos, capacidad antioxidante de bebida fermentada.

Tiempo (días)	Viabilidad Log (UFC/mL)	Compuestos fenólicos (mg EAG/100 mL)	Capacidad antioxidante (mg Trolox/100 mL)
0	7.74 ± 0.03b	643.55 ± 34.43a	1091.73 ± 51.51e
5	7.67 ± 0.03b,c	576.88 ± 51.75b	1559.53 ± 89.97d
10	7.63 ± 0.01c	458.52 ± 32.71c	2362.37 ± 170.67c
15	7.89 ± 0.01a	477.04 ± 18.14c	3787.51 ± 78.00b
20	7.76 ± 0.01b	440.00 ± 19.87c	5182.00 ± 304.89a

[a]Promedio ± desviación estándar. Letras diferentes en columna indican diferencia significativa α = 0.05 respecto al almacenamiento.

9. CONCLUSIONES

- La guanábana liofilizada se considera un fruto con buen aporte de compuestos “funcionales” como fibra dietética, compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante.
- La población de *L. acidophilus* se mantuvo por arriba de 7 ciclos logarítmicos en todas las bebidas fermentadas, siendo la bebida número 5 la que presentó un mayor crecimiento.
- La composición de las bebidas influyó en el contenido de nutrientes que presentaron, siendo la bebida 5 la de mayor aporte de minerales y de proteína, además de presentar el mayor contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante.
- La evaluación sensorial de las bebidas fermentadas no mostró diferencias significativas de los atributos evaluados (color, olor sabor y aceptación), sin embargo, se eligió la bebida 5 porque era la que presentaba una formulación más completa y la que mayor aceptación general presentó.
- Se logró mantener la viabilidad de *L. acidophilus* durante los 20 d de almacenamiento a 5°C, presentando 7 ciclos logarítmicos.
- El almacenamiento afectó los compuestos fenólicos en un 32%, mientras que la capacidad antioxidante aumentó hasta cinco veces su valor inicial.

10. RECOMENDACIONES

- Realizar una prueba sensorial a la bebida después de los 20 días de almacenamiento.
- Evaluar otro tipo de compuesto bioactivos como el contenido de flavonoides.
- Analizar los microorganismos indicadores de la calidad para garantizar la inocuidad de la bebida.
- Evaluar durante la simulación gástrica los compuestos bioactivos y la viabilidad del probiótico.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abedi E., Hashemi S. (2020). *Lactic acid production – producing microorganisms and substrates sources-state of art*. Heliyon. 6 (10).

Akomolafe S.F., Ajayi O.B. (2015). *A comparative study on antioxidant properties, proximate and mineral compositions of the peel and pulp of ripe Annona muricata (L.) fruit.* International Food Research Journal. 22(6): 2381-2388.

Ambrogi V., Bottacini F., Cao L., Kuipers B., Schoterman M., Van-Sinderen D. (2021). *Galacto-oligosaccharides as infant prebiotics: production, application, bioactive activities and future perspectives.* Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 63(6): 753-766.

Anaya L., Montalvo E. (2020). *Bioactive compounds of soursop (Annona muricata L.) fruit. bioactive compounds in underutilized fruits and nuts.* Springer. 175-189.

AOAC. (2000). *Official Methods of Analysis*. 14a edition. Association of Official Analytical Chemists, Inc. Washington D.C., EUA.

Arango O., Hurtado A., Osorio O. (2009). *La inulina como fuente de fibra alimentaria y su relación con la salud humana.* Revista Centro de Estudios en Salud. 1(11): 124-130.

Aval S., Palva A. (2005). *Lactobacillus surface layers and their applications*. FEMS Microbiology Reviews. 29 (3): 511-529.

Ávila de Hernández R., Pérez de Camacaro M., Giménez A., Caraballo, H.E.A. (2012). *Guanábana: una materia prima saludable para la industria de alimentos y bebidas*. Revista Digital de Investigación y Posgrado. 2: 134-142.

Ayivi R., Gyawali R., Krastanov A., Aljaloud S., Worku M., Tahergorabi R., Claro da Silva R., Ibrahim S.A. (2020). *Lactic acid bacteria: Food safety and human health applications*. Dairy. 1(3):202-232.

Badrie N., Schauss A. (2010). *Soursop (Annona muricata L.): Composition, nutritional value, medicinal uses, and toxicology.* Bioactive Foods in Promoting Health. 621-643.

Barukčić I., Jakopović K., Božanić R. (2019). *Valorisation of whey and buttermilk for production of functional beverages – an overview of current possibilities*. Food Technology Biotechnology. 57 (4): 448-460.

Bansal M., Poonia A., Kolluri S., Vasundhara. (2022). *Introduction on bioactive compounds, sources and their potential applications*. Bioactive Components. 3-26.

Barile D., Rastall R. (2013). *Human milk and related oligosaccharides as prebiotics*. Current Opinion in Biotechnology. 24(2): 214-219.

Bernal B.H., Calle J., Duarte E.Q., Pinzón R., Velásquez M. (2005). *Inulin from tubers of Dahlia imperialis Roetz.* Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas. 34 (2): 122-125.

Bhardwaj R., Pareek S., Sagar N.A., Vyas N. (2020). *Bioactive compounds of Annona*. Bioactive Compounds in Underutilized Fruits and Nuts. 37-62.

Carvalho F., Lahlou R.A., Pires P, Salgado M., Silva L.R. (2023). *Natural functional beverages as an approach to manage diabetes.* International Journal of Molecular Sciences. 24 (23):16977.

Casagrande T., Jacob E., Queiroz L. (2021). *Introductory Chapter: An overview on bioactive compounds with focus in the biosynthesis, characterization and applications.* IntechOpen.

Castañeda C. (2018). *Actualización en prebióticos*. Revista Cubana de Pediatría. 90 (4).

Chacón L.R., Chávez A., Rentería A.N., Rodríguez J.C. (2017). *Proteínas del lactosuero: usos, relación con la salud y bioactividades*. Interciencia. 42 (11): 712-718.

Correa J., Ortiz D., Larrahondo J., Sánchez M., Pachón H. (2012). *Actividad antioxidante en guanábana (Annona muricata l.): una revisión bibliográfica.* Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. 11: 111-126.

Corzo N., Alonso J.L., Azpiroz F., Calvo M.A., Cirici M., Leis R., Lombó F., Mateos-Aparicio I., Plou F.J., Ruas-Madiedo P., Rúperez P., Redondo-Cuenca A., Sanz

M.L., Clemente A. (2015). *Prebióticos: concepto, propiedades y efectos beneficiosos*. Nutrición Hospitalaria. 31(1): 99-118.

Davani D., Nagahdaripour M., Karimzadeh I., Seifan M., Mohkam M., Masoumi S.J., Berenjian A., Ghasemi Y. (2019). *Prebiotics: Definition, types, sources, mechanisms, and clinical applications*. Foods. 8(3): 92.

Dreher M.L. (2018). *Whole fruits and fruit fiber emerging health effects*. Nutrients. 10 (12): 1833.

Etienne A., Génard M., Lobit P., Mbeguié D., Bugaud C. (2013). *What controls fleshy fruit acidity? A review of malate and citrate accumulation in fruit cells*. Journal of Experimental Botany. 64 (6): 1451- 1469.

Fessard A., Kapoor A., Patche J., Assemat S., Hoarau M., Bourdon E., Bahorun T., Remize F. (2017). *Lactic fermentation as an efficient tool to enhance the antioxidant activity of tropical fruit juices and teas.* Microorganisms. 5: 23.

Fuente M. (2020). *La microbiota. Su función en la fisiología humana*. En Fernández J. (Ed). Fisiología humana. Capítulo 95.

Fuentes J., Arias-Santé M., Speisky H. (2019). *Compuestos bioactivos presentes en alimentos y su importancia en la salud humana*. InduAlimentos. 39-40.

Gimeno E. (2004). *Alimentos prebióticos y probióticos: la polémica científica sobre sus beneficios*. Farmacia y Sociedad. 23: 90-98

Gomand F., Borges F., Burgain J., Guerin J., Revol A., Gaiani J. (2019). *Food matrix design for effective lactic acid bacteria delivery.* Annual Review of Food Science and Technology. 10: 285-310.

Gupta A., Sanwal N., Bareen M.A., Barua S., Sharma N., Olatunji O.J., Nirmal N.P, Sahu J.K. (2023). *Trends in functional beverages: Functional ingredients, processing technologies, stability, health benefits, and consumer perspective.* Food Research International. 170: 113046.

Hamdi A., Viera I., Guillén R., Rodríguez R., Muñoz M., Monje J., Jiménez A. (2023). *Asparagus fructans as emerging prebiotics*. Foods. 12(1): 81.

Hernández D., Rico S., Sánchez P., Ayala M., Crosby M., López S. (2022). *Inulina: su uso como prebiótico en la nutrición de rumiantes*. Tropical and Subtropical Agroecosystems. 25: 105.

James A., Wang Y. (2019). *Characterization, health benefits and applications of fruits and vegetable probiotics.* CyTA Journal of Food. 17: 770-780.

Jiménez J.O., Balois R., Alia I., Juárez P., Jiménez E.I., Sumaya M., Bello J. (2017). *Tópicos del manejo postcosecha del fruto de guanábana (Annona muricata* L.*).* Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. 8 (5): 1155-1167.

Jiménez L. (2017). *Escalamiento de la producción de bebidas funcionales a partir de productos vegetales no tradicionales*. Tesis, Universidad Nacional de Colombia.

Kaur H., Kaur G., Ali S.A. (2022). *Dairy-based probiotic-fermented functional foods: an update on their health-promoting properties.* Fermentation. 8(9): 425.

Leite M.T., Silva M., Alves da Silva J.L., Santos H.C., Dutra R.D., Shanmugam S., Narain N. (2019). *Effect of spray drying on bioactive and volatile compounds in soursop (Annona muricata) fruit pulp*. Food Research International. 124: 70-77.

León-Fernández A.E., Balois-Morales R., Bautista-Rosales P.U., Palomino-Hermosillo Y.A., Bello-Lara J.E., López-Rivas C.E. (2021). E*xtracción de compuestos fitoquímicos de inflorescencia y frutos de guanábana (Annona muricata L.)*. Acta Agrícola y Pecuaria 7.

Liu Y., Chen H., Chen W., Zhong Q., Zhang G., Chen W. (2018). *Beneficial effects of tomato juice fermented by Lactobacillus plantarum and Lactobacillus casei: antioxidation, antimicrobial effect, and volatile profiles*. Molecules. 16: 2366.

Lynch K., Zannini E., Coffey A., Arendt E. (2018). *Lactic acid bacteria exopolysaccharides in foods and beverages: isolation, properties, characterization, and health benefits*. Annual Review of Food Science and Technology. 9: 155-176.

Maicas S. (2020). *The role of yeasts in fermentation processes*. Microorganisms. 8 (8): 1142.

Mannaa M., Han G., Seo Y.S., Park I. (2021). *Evolution of food fermentation processes and the use of multi-omics in deciphering the roles of the microbiota*. Foods. 10 (11): 2861.

Manoj P.M., Mohana J., Khasherao B.Y., Shams R., Dash K.K. (2023). *Fruit based probiotic functional beverages: A review.* Journal of Agriculture and Food Research. 14: 100729.

Marnpae, M., Chusak, C., Balmori, V., Kamonsuwan, K., Dahlan, W., Nhujak, T., Hamid, N., Adisakwattana, S. (2022). *Probiotic Gac fruit beverage fermented with Lactobacillus paracasei: Physiochemical properties, phytochemicals, antioxidant activities, functional properties, and volatile flavor compounds.* LWT - Food Science and Technology. 169: 113986.

Márquez D.J. (2009). *Caracterización fisiológica, fisicoquímica, reológica, nutracéutica, estructural y sensorial de la guanábana (Annona muricata).* Tesis de Doctorado en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia.

Martín del Campo M., Gómez H., Alaníz de la O R. (2008). *Bacterias ácido-lácticas con capacidad antagónica y actividad bacteriocinogénica aisladas de quesos frescos*. e-Gnosis. 6: 1-17.

Mei Z., Yuan j., Li D. (2022). *Biological activity of galacto-oligosaccharides: A review.* Frontiers in Microbiology.13: 993052.

Mendoza-Méndez O., Palacios-De la Cruz A., Salinas-Mata H., Sarmiento-Vilela K., Paucar-Menacho L. (2022). *Guanábana (Annona muricata L.): origen, características, cosecha, postcosecha, actividad antioxidante, actividad antiinflamatoria, y beneficios para la salud.* Agroindustrial Science. 12 (1): 123-129.

Moghadamtousi S.Z., Fadaeinasab M., Nikzad S., Mohan G., Ali H.M., Kadir H.A. (2015). *Annona muricata (Annonaceae): A review of its traditional uses, isolated*

acetogenins and biological activities. International Journal of Molecular Sciences. 16 (7): 15625-15658.

Mollova D., Vasileva T., Bivolarski V., Iliev L. (2023). *The enzymatic hydrolysis of human milk oligosaccharides and prebiotic sugars from LAB isolated from breast milk.* Microorganisms. 11(8): 1904.

Morales M., Miranda G., Martín O. (2023). *Recent trends in fermented beverages processing: the use of emerging technologies*. Beverages. 9 (2): 51.

Mutakin M., Fauziati R., Fadhilah F., Zuhrotun A., Amalia R., Hadisaputri Y. (2022). *Pharmacological activities of soursop (Annona muricata Lin.).* Molecules. 27 (4).

Nazhand A., Souto E., Lucarini M., Souto S., Durazzo A., Santini A. (2020). *Ready to use therapeutical beverages: focus on functional beverages containing probiotics, prebiotics and synbiotics.* Beverages. 6 (2): 26.

Norma Mexicana NMX-F-102-NORMEX-2010. *Alimentos-Determinación de acidez titulable en alimentos*. Método de ensayo (prueba).

Norma Mexicana NMX-F-103-NORMEX-2009. *Alimentos-Determinación de grados Brix en alimentos y bebidas método de ensayo (prueba)*.

Norma Oficial Mexicana NOM-F-317-S-1978. *Determinación de pH en Alimentos*.

Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, B*ienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.*

Olveira G., González I. (2016). *Actualización de probióticos, prebióticos y simbióticos en nutrición clínica*. Endocrinología y Nutrición. 63 (9): 482-494.

Olvera M., Serrano C., Quirasco M. (2015). *Detección de proteínas con actividad antibacteriana producidas por bacterias ácido lácticas*. BioTecnología. 19: 25-43

Paitan-Anticona E., Marmolejo-Gutarra D., Marmolejo-Gutarra K., Sotelo-Méndez A., Cueva-Ríos M. (2022). *Caracterización de la composición físico química de pulpas de tres ecotipos de guanábana (Annona muricata L.) y obtención de néctar con lactosuero.* Tecnología Química. 42: 453- 473.

Parra R. (2010). *Bacterias Ácido-Lácticas: Papel funcional en los alimentos.* Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial. 8 (1): 93-105.

Parra R. (2009). *Lactosuero: Importancia en la industria de alimentos.* Revista Facultad Nacional de Agronomía - Medellín. 62 (1): 4967- 4982.

Peshev D., Ende W. (2014). Fructans: *Prebiotics and immunomodulators.* Journal of Functional Foods .8: 348-35.

Poveda E. E. (2013). *Suero lácteo, generalidades y potencial uso como fuente de calcio de alta biodisponibilidad.* Revista chilena de nutrición. 40 (4): 397-403.

Ramírez J., Rosas P., Velázquez M., Ulloa M., Arce F., (2007). *Bacterias lácticas: Importancia en alimentos y sus efectos en la salud.* Revista Fuente. 7: 1-15.

Rastall R.A., Gibson G.R. (2015). *Recent developments in prebiotics to selectively impact beneficial microbes and promote intestinal health*. Current Opinion in Biotechnology. 32: 42-46.

Remes J., Coss E., Valdovinos M., Gómez O., Icaza M., Chávez J., Zárate F., Ruíz J., Aveces G., Lira M., Cerda E., Carmona R., Guerra H., Solana R. (2020). *Lactobacillus acidophilus LB: a useful pharmabiotic for the treatment of digestive disorders.* Therapeutic Advances Gastroenterology. 13.

Rivera J., Muñoz O., Rosas M., Aguilar C., Popkin B., Willett W. (2008). *Consumo de bebidas para una vida saludable: recomendaciones para la población mexicana*. Salud Pública México. 50: 173-195

Rodríguez D., Hernández A. (2017). *Desarrollo de una bebida fermentada de suero con la adición de jugo de Aloe vera y pulpa de fruta*. Escuela Superior Politécnica del Litoral. 40-50.

Romero H., Hernández H., Dávila G. (2017). *Traditional fermented beverages from México as a potential probiotic source.* Annals of Microbiology. 67: 577-586.

Rondon L., Añez M., Salvatierra A., Meneses R., Heredia M. (2015). *Probióticos: generalidades.* Archivos Venezolanos de Puericultura y Pediatría. 78(4): 123-128.

Samaniego F., Sosa del Castillo R. (2006). *Lactobacillus spp. Importantes promotores de actividad probiótica, antimicrobiana y bioconservadora.* Centro de Estudios Biotecnológicos. Facultad de Agronomía. Universidad de matanzas “Camilo Cienfuegos”. 115-122.

Sánchez M., Ruíz M., Morales M. (2015). *Probiotic microorganisms and health*. Ars Pharmaceutica. 56 (1): 45-59.

Santos I.L., Rodríguez A.M.C., Amanta E.R., Da Silva L.H.M. (2023). *Soursop (Annona muricata) properties and perspectives for integral valorization.* Molecules.12 (7): 1448.

Scharff R. (2021). *Elaboración de una bebida con potencial antioxidante a base de guanabana (Annona muricata), granadilla (Passiflora ligularis) y Camu camu (Myrciaria dubia).* Tesis para optar al título de Ingeniero en Industrias Alimentarias. Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión.

Sena B., Akanb E. (2021). *Oat bran fortified raspberry probiotic dairy drinks: Physicochemical, textural, microbiologic properties, in vitro bioaccessibility of antioxidants and polyphenols.* Food Bioscience. 43: 101223.

Sharma R., Garg P., Kumar P., Bhatia S., Kulshrestha S. (2020). *Microbial fermentation and its role in quality improvement of fermented foods.* Fermentation. 6 (4): 106.

Shoaib M., Shehzad A., Omar M., Rakha A., Raza H., Rizwan H., Shakeel A., Ansari A., Niazi S. (2016). *Inulin: Properties, health benefits and food applications.* Carbohydrate Polymers. 147: 444-454.

Šikić M., Turk D., Fiján S. (2022). *Knowledge of fermentation and health benefits among general population in North-eastern Slovenia*. BMC Public Health. 1695.

Szutowska J. (2020). Functional properties of lactic acid bacteria in fermented fruit and vegetable juices: a systematic literature review. European Food Research and Tecnology. 246: 357-372.

Teng T., Chin Y., Chai K., Chen W. (2021). *Fermentation for future food system*s. EMBO rep. 22 (5).

Torvisco C. (2014). *Lactobacillus*. Universidad Nacional de San Agustín, Facultad de Ciencias Biológicas y agropecuarias. 1-24.

Usca J., Peña S., Brito G., Arévalo G. (2020). *Probiotic characteristics of Lactobacillus: A Review.* Polo del conocimiento. 5 (8): 413-425.

Vandebroek, I., Picking, D. (2020). *Annona muricata* L. *(Annonáceas). Plantas medicinales populares en Portland y Kingston, Jamaica*. Advances in Economic Botany. In: Popular.

Vit P., Santiago B., Pérez E. (2014). *Composición química y actividad antioxidante de pulpa, hoja y semilla de guanábana Annona muricata L.* Interciencia. 39: 360-353.

White J., Hekmat S. (2018). Development of probiotic fruit juices using *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 fortified with short chain and long chain inulin fiber. Fermentation. 4(2): 27.

Williams M., Dueñas A. (2021). *Alternativas para el aprovechamiento del lactosuero: Antecedentes investigativos y usos tradicionales.* La Técnica: Revista de las Agrociencias. 26: 39-50.

Zhang S., Li T., Xie J., Zhang D., Pi C., Lingyun Z., Yang W. (2021). *Gold standard for nutrition: a review of human milk oligosaccharide and its effects on infant gut microbiota*. Microbial Cell Factories. 20 (108).

Zheng J., Wittouck S., Salvetti E., Franz C., Harris H., Mattarelli P., O´Toole P., Pot B., Vandamme P., Walter J., Watanaba K., Wuyts S., Felis G., Gänzle M., Lebeer S. (2020). *A taxonomic note on the genus Lactobacillus: Description of 23 novel genera, emended description of the genus Lactobacillus Beijerinck 1901, and union of Lactobacillaceae and Leuconostocaceae.* International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 70(4).

Zommiti M., Feuilloley M., Connil N. (2020). *Update of probiotics in human world: a nonstop source of benefactions till the end of time*. Microorganisms. 8(12): 1907.