Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Escuela Profesional de Ciencia de los Alimentos

Efecto antagónico *in vitro* de una bebida simbiótica a base de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja" frente a enteropatógenos transmitidas por alimentos

TESIS

Para optar el Título Profesional de Licenciada en Ciencia y Tecnología de los Alimentos

AUTOR

Mayori Judiht CORREA OLIVOS

ASESORES

Mg. Nelson BAUTISTA CRUZ

Dra. Ángela Cindy DÍAZ GARCÍA

Lima, Perú

2024



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Correa M. Efecto antagónico in vitro de una bebida simbiótica a base de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose “pitahaya roja” frente a enteropatógenos transmitidas por alimentos [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Ciencia de los Alimentos; 2024.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Mayori Judiht Correa Olivos
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	74462681
URL de ORCID	No aplica
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Nelson Bautista Cruz
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	10260086
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0003-0932-2332
Datos de coasesor	
Nombres y apellidos	Ángela Cindy Díaz García
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	46885106
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-6235-0511
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Julio Reynaldo Ruiz Quiroz
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	07760326
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Armando José Rivero Laverde

Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	07927118
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Gloria Marina Marín Vallejos
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	09690135
Datos de investigación	
Línea de investigación	B.2.4.2. Seguridad alimentaria B.2.4.3. Alimentos funcionales y nutracéuticos
Grupo de investigación	Innovación, desarrollo y evaluación de productos funcionales (IDEPF)
Agencia de financiamiento	Per˙. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Vicerrectorado de Investigación y Posgrado. RR N.º 05753-R-21 con código de proyecto PCONFIGI: A21040501
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Facultad de Farmacia y Bioquímica, Laboratorio de Microbiología País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: Lima Calle: Jr. Puno N°1002 Latitud: -12.05572 Longitud: -77.02324
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2022-2024
URL de disciplinas OCDE	Biología celular, Microbiología http://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.06.01 Alimentos y bebidas https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#2.11.01

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Decanato

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

Efecto antagónico *in vitro* de una bebida simbiótica a base de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja" frente a enteropatógenos transmitidas por alimentos

Que presenta la Bachiller en Ciencia y Tecnología de los Alimentos:

MAYORI JUDIHT CORREA OLIVOS

Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la **TESIS**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado Evaluador, y practicada la votación han obtenido la siguiente calificación:

DIECIOCHO (18) APROBADO CON MENCIÓN HONROSA

en conformidad con el Art. 34.° del Reglamento para la obtención Título Profesional de Licenciado (a) en Ciencia y Tecnología de los Alimentos de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Lima, 04 de julio de 2024.

Dr. Julio Reynaldo Ruiz Quiroz
Presidente

MBA. Armando José Rivero Laverde
Miembro

Mg. Gloria Marina Marín Vallejos
Miembro

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú. DECANA DE AMÉRICA.
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, Nelson Bautista Cruz, identificado con DNI N°10260086 en mi condición de asesor acreditado con la Resolución Decanal N°000615-2022-D-FFB/UNMSM de la tesis, cuyo título es: **Efecto antagónico *in vitro* de una bebida simbiótica a base de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja" frente a enteropatógenos transmitidas por alimentos**, presentado por la bachiller **Mayori Judiht Correa Olivos**, para optar el título profesional de Licenciada en Ciencia y Tecnología de los Alimentos.

CERTIFICO que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante el software de similitud textual, el documento evaluado cuenta con el porcentaje de 14 % de similitud, nivel PERMITIDO para continuar con los trámites correspondientes y para su publicación en el repositorio institucional.

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, para la obtención del título profesional de Licenciada en Ciencia y Tecnología de los Alimentos.

Lima, 27 de junio 2024



Firma del asesor
DNI: **10260086**
Nelson Bautista Cruz

DEDICATORIA

A Dios por guiarme en todo momento a cumplir mis metas profesionales.

A mis padres Lola Olivos y Marino Correa, por su amor, esfuerzo y paciencia en toda mi etapa universitaria. A mis hermanos Vanesa, Ana, Yoel por alentarme en la distancia.

AGRADECIMIENTOS

A mi asesor Mg. Nelson Bautista Cruz, *por ser un maestro y guía en tiempos difíciles, ayudándome a culminar este proyecto.*

A mi coasesora Dra. Ángela Cindy Díaz García*, por su colaboración y valiosa contribución que me permitieron culminar este trabajo.*

A mis amigas Lic. Patricia Tatiana Rudas Bautista, Bach. Brenda Elizabeth Bermúdez Barrientos y Bach. Leydi Gianella Gutierrez Gutarra*, por ser parte fundamental en el desarrollo de este proyecto y su valiosa amistad durante todos estos años.*

A los docentes del laboratorio de Microbiología y Biotecnología del Departamento Académico de Microbiología y Parasitología Básica y Aplicada por brindarme las instalaciones, equipos y reactivos que fueron esenciales para el éxito de mi investigación.

Al Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos*, por el financiamiento a este trabajo.*

Y a todos los que aportaron a mi vida universitaria y durante el desarrollo de este trabajo. ¡Muchas gracias!

Esta investigación fue financiada por la Universidad Nacional Mayor de San Marcos – RR N.º 05753-R-21 con código de proyecto PCONFIGI: A21040501

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN 15

1. Planteamiento del problema 15

1.1. Formulación del problema 16

1.2. Objetivos 16

1.2.1. Objetivo general 16

1.2.2. Objetivos específicos 16

1.3. Importancia y alcance de la investigación 16

1.4. Limitaciones de la investigación 17

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA 18

2.1 Antecedentes del estudio 18

2.2 Bases teóricas 21

2.2.1 Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) 21

2.2.8 Glosario de términos 27

III. HIPÓTESIS Y VARIABLES 28

3.1. Hipótesis 28

3.2. Variables 28

3.2.1. Variable dependiente: 28

3.2.2. Variable independiente: 28

3.3. Operacionalización de variables (ANEXO 1) 28

IV. MATERIALES Y MÉTODOS 29

4.1. Área de estudio: 29

4.1.1. Consideraciones éticas: 29

4.2. Diseño de investigación 29

4.3. Muestra 29

4.4. Métodos 29

4.4.1. Obtención de la bebida simbiótica a base de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose “pitahaya roja”. 29

4.4.2. Evaluación organoléptica, fisicoquímica, recuento de probióticos y cuantificación de fibra dietética de la bebida simbiótica de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja". 30

4.4.3. Evaluación *in vitro* del efecto antagónico de la bebida simbiótica de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja" sobre cepas patógenas. 32

4.4.3.2 Evaluación del efecto antagónico *in vitro* de la bebida simbiótica a base de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja" frente a *Salmonella* Enteritidis ATCC® 13076™. 32

4.4.3.3 Evaluación del efecto antagónico *in vitro* de la bebida simbiótica a base de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja" frente a *Shigella flexneri* ATCC® 9199™. 33

4.4.3.4 Evaluación del efecto antagónico *in vitro* de la bebida simbiótica a base de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja" frente a *Listeria monocytogenes* ATCC® 7644™. 34

4.4.4. Análisis estadístico 34

V. RESULTADOS 35

5.1. Evaluación organoléptica, fisicoquímico, recuento de probióticos y cuantificación de fibra dietética de la bebida simbiótica de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja". 35

5.2. Evaluación del efecto antagónico *in vitro* de la bebida simbiótica a base de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja". 36

VI. DISCUSIÓN 57

VII. CONCLUSIONES 62

VIII. RECOMENDACIONES 63

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 64

X. ANEXOS (*) 71

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Dosis sugeridas de los probióticos más comunes 26
Tabla 2. Características organolépticas de la bebida simbiótica de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja". 35
Tabla 3. Características fisicoquímicas de la bebida simbiótica de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja". 35
Tabla 4. Contenido de fibra dietética en la bebida simbiótica dividido por tipo insoluble (FDI), soluble (FDS) y total (FDT) 36
Tabla 5. Recuento de *L. rhamnosus* ATCC® 53103™ y *L. acidophilus* ATCC® 4356™ de la bebida simbiótica. 36
Tabla 6. Variación de pH en cada tratamiento durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica frente a *Salmonella* Enteritidis 37
Tabla 7. Cantidad de *Salmonella* Enteritidis en cada tratamiento durante el enfrentamiento con la bebida simbiótica 39
Tabla 8. Recuento de *Lactobacillus rhamnosus* ATCC® 53103™ para cada tratamiento durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica con *Salmonella* Enteritidis..... 40
Tabla 9. Recuento de *Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356™ para cada tratamiento durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica con *Salmonella* Enteritidis..... 42
Tabla 10. Variación de pH para cada tratamiento durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica frente a *Shigella flexneri*. 43
Tabla 11. Cantidad de *Shigella flexneri* en cada tratamiento durante el enfrentamiento con la bebida simbiótica. 45
Tabla 12. Recuento de *Lactobacillus rhamnosus* ATCC® 53103™ para cada tratamiento durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica con *Shigella flexneri*. 46
Tabla 13. Recuento de *Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356™ para cada tratamiento durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica con *Shigella flexneri.* 48
Tabla 14. Variación de pH para cada tratamiento durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica frente a *Listeria monocytogenes* 50
Tabla 15. Cantidad de *Listeria monocytogenes e*n cada tratamiento durante el enfrentamiento con la bebida simbiótica 52
Tabla 16. Recuento de *Lactobacillus rhamnosus* ATCC® 53103™ para cada tratamiento durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica con *Listeria monocytogenes* 54
Tabla 17. Recuento de *Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356™ para cada tratamiento durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica con *Listeria monocytogenes*. 55

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Variación de pH entre los tratamientos durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica frente a *Salmonella* Enteritidis 38
Figura 2. Cantidad de *Salmonella* Enteritidis entre tratamientos durante el enfrentamiento con la bebida simbiótica. 39
Figura 3. Recuento de *Lactobacillus rhamnosus* ATCC® 53103™ entre tratamientos durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica con *Salmonella* Enteritidis 41
Figura 4. Recuento de *Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356™ entre tratamientos durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica con *Salmonella* Enteritidis 42
Figura 5. Variación de pH entre los tratamientos durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica frente a *Shigella flexneri* 44
Figura 6. Cantidad de *Shigella flexneri* entre los tratamientos durante el enfrentamiento con la bebida simbiótica. 45
Figura 7. Recuento de *Lactobacillus rhamnosus* ATCC® 53103™ entre los tratamientos durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica con *Shigella flexneri*. 47
Figura 8. Recuento de *Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356™ entre tratamientos durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica con *Shigella flexneri*. 49
Figura 9. Variación de pH entre tratamientos durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica frente a *Listeria monocytogenes* 51
Figura 10. Cantidad de *Listeria monocytogenes* entre tratamientos durante el enfrentamiento con la bebida simbiótica 53
Figura 11. Recuento de *Lactobacillus rhamnosus* ATCC® 53103™ entre tratamientos durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica con *Listeria monocytogenes* 54
Figura 12. Recuento de *Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356™ entre tratamientos durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica con *Listeria monocytogenes*. 56
Figura 13. Evaluación de las características organolépticas, fisicoquímicas recuento de probióticos y cuantificación de fibra dietética en la bebida simbiótica de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja". 72
Figura 14. Activación de las cepas enteropatógenas 73
Figura 15. Inoculación de las cepas patógenas en caldo TSB- **0 horas** 73
Figura 16. Imagen del ensayo de enfrentamiento de la bebida simbiótica con *Salmonella* Enteritidis ATCC® 13076™. 74

Figura 17. Imagen del ensayo de enfrentamiento de la bebida simbiótica con *Shigella flexneri* ATCC® 9199™. 74
Figura 18. Imagen del ensayo de enfrentamiento de la bebida simbiótica con *Listeria monocytogenes* ATCC® 7644™. 75
Figura 19. Imagen de recuento de *Salmonella* Enteritidis ATCC® 13076™, *Shigella flexneri* ATCC® 9199™, *Listeria monocytogenes* ATCC® 7644™ y probióticos (*Lactobacillus rhamnosus* ATCC® 53103™ y *Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356™) en agar XDL, Hektoen, Oxford y MRS respectivamente 75
Figura 20. Resumen ANOVA para pH a las 0 horas durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica frente a *Salmonella* Enteritidis 76
Figura 21. Resumen ANOVA para pH a las 12 horas durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica frente a *Salmonella* Enteritidis 76
Figura 22. Resumen ANOVA para pH a las 24 horas durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica frente a *Salmonella* Enteritidis 76
Figura 23. Resumen ANOVA para el recuento *Salmonella* Enteritidis a las 0 horas. .. 76
Figura 24. Resumen ANOVA para el recuento *Salmonella* Enteritidis a las 24 horas. 76
Figura 25. Resumen ANOVA para el recuento *Salmonella* Enteritidis a las 48 horas. 76
Figura 26. Resumen ANOVA para el recuento *Salmonella* Enteritidis a las 72 horas. 77
Figura 27. Resumen ANOVA para el recuento *L. rhamnosus* frente a *Listeria monocytogenes* a las 0 horas. 77
Figura 28. Resumen ANOVA para el recuento *L. acidophilus* frente a *Shigella flexneri* a las 24 horas. 77
Figura 29. Resumen ANOVA para el recuento *L. acidophilus* frente a *Shigella flexneri* a las 24 horas. 77
Figura 30. Resumen ANOVA para el recuento *L. acidophilus* frente a *Shigella flexneri* a las 48 horas. 77

ANEXOS

Anexos 10.1 Operacionalización de variables 71

Anexos 10.2. Evaluación organoléptica, fisicoquímica, recuento de probióticos y cuantificación de fibra dietética de la bebida simbiótica de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja". 72

Anexos 10.3. Evaluación *in vitro* del efecto antagónico de la bebida simbiótica de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja" sobre cepas patógenas 73

Anexos 10.4. Resumen ANOVA de pH, recuento de bacterias enteropatógenos y probióticos durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica 73

ABREVIATURAS

Agar XLD: agar Xilosa, Lisina, Desoxicolato.

Agar MRS: agar de Man, Rogosa y Sharpe.

BAL: bacterias ácido-lácticas.

UFC: unidades formadoras de colonias.

ATCC: American Type Culture Collection.

FDT: fibra dietética total.

IgA: inmunoglobulina A.

I+D: investigación y desarrollo.

ETA: Enfermedad transmitida por alimentos.

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto antagónico *in vitro* de una bebida simbiótica a base de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja" y probióticos *Lactobacillus rhamnosus* ATCC® 53103™ y *Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356™ frente a bacterias enteropatógenas transmitidas por alimentos. La evaluación del efecto antagónico *in vitro* se realizó frente a *Listeria monocytogenes* ATCC® 7644™, *Salmonella* Enteritidis ATCC® 13076™ y *Shigella flexneri* ATCC® 9199™ mediante el cultivo en caldo tripticasa soya (TSB); se prepararon 4 frascos del medio para cada patógeno, al primer frasco se inoculó solo el patógeno, al segundo frasco la bebida simbiótica al 1% más el patógeno, al tercer frasco la bebida al 2% más el patógeno y al cuarto frasco solo la bebida simbiótica al 2%; los medios fueron incubados a 37 °C por 72 horas, durante este tiempo se realizó la medición de pH del medio, recuento de los enteropatógenos y de los probióticos en agar MRS cada 12 horas. Para los tratamientos con 2% de la bebida simbiótica a las 72 horas, en el ensayo con *Salmonella* Enteritidis ATCC® 13076™, el pH fue de 4,98 ± 0,02, mientras que el recuento del patógeno fue de 6,28 ± 0,39 Log UFC/mL frente a 6,40 ± 0,02 y 7,17 ± 0,29 Log UFC/mL respectivamente del blanco; para el caso de *Shigella flexneri* ATCC® 9199™, el pH fue de 4,50 ± 0,17 y el recuento del patógeno fue 3,78 ± 0,00 Log UFC/mL frente a 6,40 ± 0,01 y 7,68 ± 0,02 Log UFC/mL respectivamente del blanco; y para el caso de *Listeria monocytogenes* ATCC® 7644™, el pH fue de 4,62 ± 0,01 y el recuento del patógeno fue de 3,85 ± 0,21 Log UFC/mL frente a 6,25 ± 0,05 y 4,73 ± 0,04 Log UFC/mL respectivamente del blanco. La mejor respuesta se observó en el tratamiento con bebida simbiótica al 2% frente a las tres cepas patógenas a comparación del blanco (sin bebida simbiótica), siendo mayor el efecto antagónico frente a *Shigella flexneri* ATCC® 9199™, seguida frente a *Listeria monocytogenes* ATCC® 7644™.

Palabras clave: *Hylocereus monacanthus, in vitro*, efecto antagónico, bebida simbiótica, *Salmonella* Enteritidis, *Shigella flexneri, Listeria monocytogenes, Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus acidophilus.*

ABSTRACT

The objective of the present work was to evaluate the antagonistic effect *in vitro* of a symbiotic drink based on the pulp of *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "red pitahaya" and probiotics *Lactobacillus rhamnosus* ATCC® 53103™ and *Lactobacillus acidophilus* ATCC ® 4356™ against foodborne enteropathogenic bacteria. The evaluation of the antagonistic effect *in vitro* was carried out against *Listeria monocytogenes* ATCC® 7644™, *Salmonella* Enteritidis ATCC® 13076™ and *Shigella flexneri* ATCC® 9199™ by culture in trypticase soy broth (TSB); 4 bottles of the medium were prepared for each pathogen, the first bottle was inoculated with only the pathogen, the second bottle with the 1% symbiotic drink plus the pathogen, the third bottle with the 2% drink plus the pathogen, and the fourth bottle with only the drink. 2% symbiotic; The media were incubated at 37 °C for 72 hours. During this time, the pH of the medium was measured, as well as the counting of enteropathogens and probiotics in MRS agar every 12 hours. For treatments with 2% of the synbiotic drink at 72 hours, in the trial with *Salmonella* Enteritidis ATCC® 13076™, the pH was 4,98 ± 0,02, while the pathogen count was 6.28 ± 0,39 Log CFU/mL compared to 6,40 ± 0,02 and 7,17 ± 0,29 Log CFU/mL respectively of the blank; In the case of *Shigella flexneri* ATCC® 9199™, the pH was 4,50 ± 0,17 and the pathogen count was 3,78 ± 0,00 Log CFU/mL compared to 6,40 ± 0,01 and 7 ,68 ± 0,02 Log CFU/mL respectively of the blank; and in the case of *Listeria monocytogenes* ATCC® 7644™, the pH was 4,62 ± 0,01 and the pathogen count was 3,85 ± 0,21 Log CFU/mL versus 6,25 ± 0,05 and 4,73 ± 0,04 Log CFU/mL respectively of the blank. The best response was observed in the treatment with 2% synbiotic drink against the three pathogenic strains compared to the blank (without synbiotic drink), with the antagonistic effect being greater against *Shigella flexneri* ATCC® 9199™, followed by *Listeria monocytogenes* ATCC ® 7644™.

Keywords: *Hylocereus monacanthus*, *in vitro*, antagonistic effect, symbiotic drink, *Salmonella* Enteritidis, *Shigella flexneri*, *Listeria monocytogenes*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus.*

I. INTRODUCCIÓN

1. Planteamiento del problema

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) surgen cuando se ingieren agua o alimentos contaminados por bacterias oportunistas o agentes químicos, es importante recalcar que, el país no cuenta con un sistema sanitario eficiente, lo que conlleva a brotes que principalmente se presentan en reuniones sociales, venta de comidas. Esta situación plantea un grave problema para la población, debido a que, aumenta el riesgo de contagio por ETA, siendo el de mayor importancia *Salmonella* Entérica, una cepa multidrogoresistentes que ocasiona gastroenteritis, elevando los costos en los tratamientos debido a que, disminuye la eficacia, produciendo el incremento de la tasa de morbimortalidad[1]. En 2020, la Organización Mundial de Salud (OMS) ha establecido que la resistencia a los antimicrobianos (RAM) es una de las amenazas más graves de salud pública mundial, debido a que, disminuye la eficacia en los tratamientos de las infecciones gastrointestinales, incrementando la tasa de mortalidad y morbilidad[2]. Siendo *Salmonella* la cuarta causa principal de gastroenteritis en el mundo provocando 93,8 millones de casos de infecciones transmitidas por alimentos[3]. Además, *Listeria monocytogenes* ha desarrollado fuerte resistencia antibacteriana, llegando a ser completamente resistente a la penicilina G[4], de modo que, anualmente fallecen 230 000 personas por ingesta de alimentos contaminados con *Salmonella* no tífica, *Escherichia coli* patógena, *Campylobacter*, *Listeria monocytogenes*[5].

Frente a estas situaciones, la OMS promueve la investigación y desarrollo de nuevas alternativas de tratamiento, puesto que se presentó una lista de patógenos en prioridad elevada (*Salmonella*) y media (*Shigella sp*) con resistencia a las fluoroquinolonas[6]. las investigaciones han demostrado el efecto inhibitorio de los probióticos y simbióticos frente a patógenos como *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Listeria monocytogenes, S.* Enteritidis[7–9]. La bebida simbiótica contiene "pitahaya roja" como fuente natural de prebiótico, fermentada por dos probióticos *Lactobacillus rhamnosus* y *Lactobacillus acidophilus.* Por tal motivo, se plantea evaluar el efecto antagónico *in vitro* de una bebida simbiótica preparada a base de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja" frente a bacterias enteropatógenos transmitidas por alimentos.

1.1. Formulación del problema

¿La bebida simbiótica a base de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja" posee un efecto antagónico *in vitro* frente a bacterias enteropatógenas transmitidas por alimentos?

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo general

Evaluar el efecto antagónico *in vitro* de una bebida simbiótica a base de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja" frente a bacterias enteropatógenas transmitidas por alimentos.

1.2.2. Objetivos específicos

- Analizar las características organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas de la bebida simbiótica a base de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja".
- Determinar el efecto antagónico *in vitro* de la bebida simbiótica a base de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja" frente a *Salmonella* Enteritidis ATCC® 13076™.
- Determinar el efecto antagónico *in vitro* de la bebida simbiótica a base de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja" frente a *Shigella flexneri* ATCC® 9199™.
- Determinar el efecto antagónico *in vitro* de la bebida simbiótica a base de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja" frente a *Listeria monocytogenes* ATCC® 7644™.

1.3. Importancia y alcance de la investigación

Los simbióticos son productos que contienen prebióticos y probióticos que aumentan la supervivencia y actividad *in vivo* de los probióticos, equilibrando y manteniendo saludable el microbiota intestinal[10].

En caso de que los resultados sean prometedores, será un aporte muy importante para estudios frente a otros patógenos transmitidos por los alimentos como las cepas patógenas de *Escherichia coli*, *Yersinia* enterocolítica, etc. La bebida simbiótica tiene un impacto significativo en la salud de la población, debido a que, se podrá utilizar en la prevención y tratamiento de infecciones causadas por bacterias oportunistas, al mismo tiempo mejorará la salud intestinal. Estos beneficios no solo promoverán la calidad de vida de las personas, sino que también reducirán los gastos asociados con la salud pública. Además, al promover una alimentación más saludable, la bebida simbiótica desempeñará un papel

crucial en la prevención de enfermedades a largo plazo. Por otro lado, este trabajo servirá de base para los estudios posteriores *in vivo* frente a los enteropatógenos transmitidos por alimentos contra quienes tenga el efecto inhibitorio. Finalmente, el uso de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja" como fuente natural de prebiótico en la bebida simbiótica, permitirá su aplicación y valoración de este fruto cultivado en Perú, además, servirá como base para futuras investigaciones con otros frutos que contengan prebióticos naturales.

1.4. Limitaciones de la investigación

Una limitación de la investigación es que la preparación de la bebida simbiótica depende de la disponibilidad del fruto, el cual es estacional.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1 Antecedentes del estudio

Amiri et al.[11], optimizaron la producción de péptidos antimicrobianos (AMP) a través de cultivos puros y mixtos *de Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium lactis* en medios de modelo de leche. Para la optimización de AMP aplicaron el diseño Box-Behnken, utilizaron el método de dilución en caldo para evaluar el efecto antimicrobiano de los péptidos frente a *Listeria monocytogenes*. Los resultados demostraron que para una bioproducción óptima de *Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium lactis* BB-12 y su cultivo mixto las temperaturas óptimas fueron de 38,71 °C, 42 y 39 ºC, con tiempos de fermentación 26,15 h, 60 y 36 h con suplemento de extracto de levadura 4,45%, 6% y 5% respectivamente. Asimismo, la actividad antagónica de los péptidos de *Lactobacillus acidophilus* (14,03 ± 0,68 mm) fue mayor a comparación de *B. lactis y* cultivos mixtos.

Son et al.[12], evaluaron las propiedades probióticas de las cepas *Lactobacillus plantarum* Ln4 y G72 aisladas de kimchi, siendo identificadas mediante secuenciación del gen 16S ARNr, se compararon con una cepa probiótica comercial *Lactobacillus rhamnosus* KCTC 12202BP. Para el ensayo de propiedad probiótica realizaron ensayos de tolerancia a condiciones gástricas artificiales (pH 2,5), asimismo, la sensibilidad de las cepas a los antibióticos se utilizó la técnica de difusión en disco y agar MRS. Todas las cepas fueron capaces de sobrevivir en condiciones gástricas artificiales, sin embargo, las dos cepas aisladas fueron resistentes a consptomicina, kanamicina y ciprofloxacina.

Rodríguez et al.[7], evaluaron *in vitro* la capacidad probiótica de cepas lácticas aisladas de "chicha" de molle. La evaluación probiótica *in vitro* incluyó pruebas de tolerancia gastrointestinales (pH ácido, extractos gástricos y sales biliares) y prueba de antagonismo. Se determinó que 25 cepas BAL fueron resistentes a condiciones gastrointestinales y 14 cepas de BAL fueron productoras de sustancias inhibidoras de amplio espectro, sin embargo, la especie de *Lactobacillus plantarum* presentó mayor actividad antagónica frente a bacterias patógenos como *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

De Vasconcelos et al.[13], evaluaron la presencia de *Listeria monocytogenes* en muestras de vegetales y su resistencia a los antimicrobianos. Recolectaron 132 muestras (verduras, congeladas y listas para comer), el aislamiento de *L. monocytogenes*, se confirmó mediante PCR multiplex. La resistencia se evaluó a través de un ensayo de difusión en disco con puntos de corte a la resistencia de *Staphylococcus*. De las muestras estudiadas 1 muestra de verduras crudas y 3 de verduras listas para comer presentaron *L.*

monocytogenes; de estos últimos, 2 aislados presentaron resistencia a la penicilina G y tetraciclina.

Aryantini et al.[8], estudiaron la actividad antagónica de tres cepas de *Lactobacillus rhamnosus* FSMM15, FSMM22 y FSMM26 aisladas de leche de yegua fermentada frente a bacterias patógenas intestinales. Para determinar las concentraciones mínimas inhibidoras de *L. rhamnosus* se utilizó el método de microdilución y para la actividad antimicrobiana utilizaron el sobrenadante de cultivo en caldo MRS libre de células, el efecto antagónico mediante en difusión de discos. Se observó que la cepa FSMM15 inhibió los crecimientos de *Salmonella* Typhimurium LT-2, *Shigella sonnei*, *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli* O157.

Eom et al.[14], determinaron los efectos de *L. plantarum* JSA22 aislada de trigo sarraceno sol seon gjang en el tratamiento y prevención de las infecciones causada por *S.* Typhimurium. Realizándose ensayos de tolerancia sales biliares, ácidos, calor, actividad antagónica frente a las bacterias *B. cereus, S. aureus, E. coli y S. enterica*, mediante difusión en pozo, así como, ensayos de adhesión, invasión, citotoxicidad celular, y se utilizó como control positivo a la cepa GG de *L. rhamnosus*. Las cepas mostraron altas tasas de supervivencia bajo estrés por calor y bilis, *L. plantarum* JSA22 mostró una mayor actividad inhibitoria frente a *S. enterica, E. coli*, además, inhibió la adherencia e invasión celular de S. Typhimurium. Se plantea el uso de *L. plantarum JSA22* como agente probiótico para la mejora en la respuesta inmunitaria del huésped en defensa de una infección bacteriana.

Anandharaj et al.[15], evaluaron el potencial probiótico de cepas aisladas e identificadas de koozh y pepinos fermentados. Realizaron ensayos de resistencia a diferentes pH, sales biliares, resistencia antibióticos, actividad antimicrobiana mediante difusión en pozos y ensayo de reducción de colesterol. Se identificaron 51 cepas, de estos las cepas GI9 y FKI21 demostraron ser más resistentes a pH 3, asimismo, resistentes a las sales biliares y a patógenos entéricos (*E. coli, S. aureus*) impidiendo su crecimiento, también, fueron capaces de asimilar más colesterol del medio de crecimiento. Por otro lado, la cepa *W. koreensis* FKI2 tuvo mayor resistencia a los antibióticos excepto a la cefalexina y novobiocina. Las cepas *L. crispatus* GI9 y *W. koreensis* FKI21 cumplen con los requisitos y características principales de un probiótico eficiente.

Ahn et al.[16], evaluaron las propiedades probióticas de BAL aisladas de pasta de soja tradicional. Mediante cromatografía de capa fina identificaron seis aislados de BAL que producían grandes cantidades de homopolisacáridos (HoPS), identificándolas mediante

gen ADNr 16S, luego realizaron ensayos de resistencia a jugo gástrico, fluidos biliares artificiales, así como el efecto simbiótico de AOS (arabino-oligosacáridos) y difusión de pozos para la actividad antimicrobiana de las cepas frente a *Listeria monocytogenes* LMG 13305, *Staphylococcus aureus* DSM 346, *Bacillus cereus* ATCC 27348, *Escherichia coli* DSM 30083, *Salmonella enterica* IFO. Se evidenció que las cepas *L. plantarum* JSA22, *L. pentosus* JSA57 y *L. alimentarius* HSB15 presentaron resistencia a jugo gástrico y esta última a los fluidos biliares artificiales, además utilizando AOS la JSA22 inhibió a 4 cepas patógenas alimentarias. Por ende, el autor sugiere utilizar AOS como simbiótico.

Das et al.[9], determinaron la eficacia de la cepa *Lactobacillus plantarum* KSBT 56 aislada de dahi chenna en la prevención de crecimiento de *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. El ensayo se realizó con los sobrenadantes de un cultivo libre de células a diferentes concentraciones (3%, 5%, 7%, 9% y 11%), así como, la invasión y capacidad de formación de biopelículas mediante cocultivo. Los resultaron mostraron una destrucción eficaz de *S.* Enteritidis (89,6%) al 11% de CFCS después de 4 horas, asimismo, se redujo significativamente la capacidad de formación de biopelículas, así como, el 80% de reducción en invasión por *Salmonella* Enteritidis. Los autores sugieren que KSBT 56 puede ser utilizado como una cepa probiótica potencial con efectos significativamente favorables en el huésped.

Madureira et al.[17] evaluaron la actividad antagónica con las cepas de *Bifidobacterium animalis* y *Lactobacillus casei* de un queso de suero probiótico contra patógenos transmitidos por los alimentos. Para el cultivo de los probióticos se utilizó caldo MRS con cisteína. Para el ensayo de la actividad antagónica frente a los patógenos fue difusión en pozo. Se observó inhibición total a *P. aeruginosa* por *B. animalis* y *Salmonella* Enteritidis *y L. innocua* por *L. casei*. Por tanto, se sugirió que la vida útil de los quesos de suero puede extenderse con el uso de estas cepas probióticas.

Se llevó a cabo una búsqueda exhaustiva de información y no se encontraron estudios similares que investiguen el efecto antagonista *in vitro* de una bebida simbiótica a base de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja" contra las principales bacterias enteropatógenas. Del mismo modo, tampoco se encontraron estudios que utilizaran bebidas simbióticas con otras fuentes de prebióticos y probióticos en el enfrentamiento contra *Salmonella* Enteritidis, *Shigella flexneri* y *Listeria monocytogenes.*

2.2 Bases teóricas

2.2.1 Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA)

Las ETA constituyen un conjunto de indicios y manifestaciones que surgen a raíz de consumir alimentos o agua que han sido contaminados, debido a prácticas inadecuadas de manipulación, almacenamiento o preparación, así como a condiciones poco saludables durante la producción y distribución de los productos alimenticios. Las ETA son causadas por bacterias, parásitos, virus, productos químicos y toxinas. Entre los principales patógenos clásicos tenemos: *Salmonella spp.*, *Escherichia coli, Clostridium spp.*, *Staphylococcus aureus, Bacillus cereus* y *Vibrio cholerae*, *Listeria monocytogenes* esta última considerada como bacteria emergente[18].

Las ETA tienen un impacto negativo en la salud pública. Esto se debe a que aproximadamente cada año fallecen alrededor de 420 000 personas por ingerir alimentos o aguas contaminadas, siendo las familias de bajos ingresos las más vulnerables[5].

En el año 2023 en la provincia de Huaral se registraron 673 casos de ETA, siendo la población masculina la más afectada con un (53%)[19].

2.2.1.1. *Salmonella enterica* subespecie *enterica* serovar Enteritidis ATCC® 13076™.

a. Características

Perteneciente a la familia Enterobacteriaceae, es una bacteria intracelular facultativa, Gram negativa con forma de bacilo, no forma esporas. Se dividen en dos especies *S. entérica* y *S. bongori*, se subdividen en serotipos y las cepas se diferencias según la presencia o ausencia de antígenos O (somáticos) y H (flagelos)[20].

b. ETA por *Salmonella* spp.

La *salmonelosis* es la afección más frecuente relacionada con *Salmonella*, ocupa el cuarto lugar como causa principal de gastroenteritis. *Salmonella* Enteritidis está asociada a la ingesta de productos avícolas, lácteos o alimentos ricos en grasas y de baja actividad de agua[21]; derivando en *salmonelosis* al hospedador, siendo la carne de pollo el alimento más común (47,8%)[22]. Anualmente fallecen 155 000 personas a nivel mundial, las infecciones agudas producidas por S. Entérica pueden presentar gastroenteritis, fiebre tifoidea, bacteriemia. En Perú, los serotipos de *salmonella* aislados de pacientes con bacteriemia son 45% de Enteritidis, 36% de Typhimurium y 11% de Typhi[23].

c. Mecanismo de transmisión

Su principal mecanismo de transmisión es fecal- oral por agua o alimentos contaminados, también se puede adquirir por el contacto con animales o personas infectadas, su tiempo

de incubación es de 6-72 horas y pueden estar en el organismo de 4 a 7 días, provocando náuseas, dolor abdominal, fiebre, diarrea, vómito, dolor de cabeza, asimismo, puede causar septicemia, artritis reactiva o la muerte. La carga de infección es de 10^5 a 10^9 UFC/mL, pero dependiendo el sistema inmune y la edad, la dosis puede ser de 1 UFC/g[20].

d. Resistencia a los antimicrobianos

En la Unión Europea para *Salmonella* Enteritidis en el 2020 se reportó resistencia a los antibióticos de riesgo alto (20-50%) ciprofloxacina, colistina, ácido nalidíxico, lo que produce que los tratamientos tengan baja efectividad, mayor costo y duración[24].

2.2.1.2. *Shigella flexneri* ATCC® 9199™

a. Características

Bacilo Gram negativo, no móvil, aeróbico, pertenece a la familia de las Enterobacterias. Se clasifican en cuatro *especies S. dysenteriae, S. flexneri, S. boydii y S. sonne*[25].

b. ETA por *Shigella* spp

Las especies *Shigella flexneri* son la causa principal de shigelosis en los países en vías de desarrollo, provocan un episodio de diarrea con sangre, además invaden y dañan el tejido del colon de manera localizada. Se estima que provoca al menos 80 millones de casos de diarrea con sangre y ocasiona aproximadamente 700 mil muertes anualmente.[26].

c. Mecanismo de transmisión

Se transmite por el consumo de agua o alimentos contaminados que hayan estado en contacto con las heces de una persona contaminada, solo se necesita una mínima carga de 10 - 200 organismos viables, dependiendo del sistema inmune del individuo para provocar una infección, con algunas manifestaciones (fiebre, diarrea, dolor abdominal y vómitos)[25], teniendo factores de riesgo de muerte en niños no amamantados, lactantes y adultos mayores de 50 años, pacientes deshidratados, niños y adultos desnutridos[26].

d. Resistencia a los antimicrobianos

La resistencia de *Shigella* spp. al ácido nalidíxico, ampicilina, sulfametoxazol-trimetoprim[26], también, 6% ciprofloxacina, 14% azitromicina, 17% ciprofloxacina[27] y fluoroquinolonas[2], lo que dificulta su tratamiento, requiriendo el uso de otros antibióticos más costosos.

2.2.1.3. *Listeria monocytogenes* ATCC® 7644™

a. Características

Es una bacteria intracelular, grampositivo perteneciente a la familia *Listeriaceae,* no genera esporas y carece de cápsula, se encuentra de manera ubicua en la naturaleza (suelo, agua y algunos animales), por lo tanto, pueden contaminar los alimentos que tienen

contacto directo con el suelo y aguas servidas. Este microorganismo puede sobrevivir entre -18°C a 45°C, tolerante a la sal en un 20%, lo cual significa un peligro al consumidor[28].

b. ETA por *Listeria monocytogenes*

La listeriosis es la afección más común causada por *L. monocytogenes*. En Perú, es la primera causa de meningitis neonatal, en general tiene una tasa de mortalidad de 20-30%, afecta a niños inmunodeprimidos, en algunos casos a adultos, pero principalmente a mujeres embarazadas (12 de cada 100 000) que pueden transmitir el microorganismo al feto o neonato mediante el útero o canal de parto[29].

c. Mecanismo de transmisión

El ser humano puede adquirir este patógeno al consumir alimentos crudos, listos para comer (salchichas, mariscos ahumados, comidas preparadas entre otros) que no han pasado por tratamiento térmico adecuado o malas prácticas de manufactura contaminándose durante la elaboración, otras formas de transmisión pueden ser a través del contacto directo con animales infectados o sus tejidos (zoonosis)[28]

La carga mínima es de 0,1- 10^8 UFC (teniendo en cuenta que varía dependiendo el sistema inmune de la persona), si el hospedador está sano y se infecta se le denomina listeriosis no invasiva presentando síntomas leves como fiebre, diarrea, dolor muscular y dolor de cabeza; pero si afecta a las personas de alto riesgo de infección, se le denomina listeriosis invasiva y los síntomas son graves con una tasa de mortalidad de 20-30% en mujeres gestantes[28].

d. Resistencia a los antimicrobianos

L. monocytogenes ha desarrollado una fuerte resistencia antibacteriana, es totalmente resistente a la penicilina G[4], ácido nalidíxico, clindamicina, ampicilina, linezolid[8].

En un estudio realizado por Şanlıbaba, se observó una resistencia de 94,1% a oxacilina, 76,5% kanamicina, 70,6 % levofloxacino, 64,7% teicoplanina, 53% amoxicilina, 35,3% ciprofloxacino. La resistencia a los antimicrobianos reduce la eficacia de los tratamiento, incrementa los costos y requiere la administración de dosis más altas para poder combatir este tipo de enteropatógenos[30].

2.2.1.4. Nuevas estrategias de prevención y tratamiento

Los últimos 30 años, la falta de nuevos antibióticos ha generado un incremento en la resistencia a los medicamentos utilizados en el tratamiento de diversas enfermedades, lo cual conlleva importantes repercusiones en la salud pública, particularmente para aquellos países con recursos limitados[31].

La Organización Mundial de la Salud (OMS) está a la vanguardia de numerosas iniciativas entre las cuales apoya la I+D sobre resistencia a los antimicrobianos, con la finalidad de extender la efectividad de los antimicrobianos y fomentar el desarrollo de nuevas herramientas y medicamentos, esto mediante colaboraciones del sector público y privado[2,6].

2.2.2 Probióticos

Microorganismos vivos, que al administrarse de manera adecuada repercute de manera positiva en la salud del huésped[32].

Los beneficios inmunológicos se encuentran la activación de los macrófagos locales que aumentan la presentación de antígenos a los linfocitos B, en consecuencia, incrementan la generación de IgA secretora, además**,** inducen la reducción a la respuesta de los antígenos de los alimentos[32].

Entre los beneficios no inmunológicos, digieren alimentos, compiten con patógenos por los nutrientes y adhesión, producen bacteriocinas para eliminar e inhibir patógenos, de igual manera, crean un ambiente hostil para los patógenos mediante la variación del pH local. Por otro lado, estimulan la producción epitelial de mucina e incrementan la función de barrera del epitelio[32].

2.2.2.1 Bacterias ácido-lácticas.

Son bacterias Grampositivas con forma de cocos, bacilos o cocobacilos, no forman esporas, no tienen motilidad, carecen de catalasa. Una de sus clasificaciones son homofermentativas y heterofermentativas, esta última solo produce el 50% de ácido láctico[33].

2.2.2.1.1 Género *Lactobacillus*

Actualmente, el género *Lactobacillus* incluye más de 180 especies gram-positivas[33], entre sus características principales sus colonias miden entre 2- 5 mm, con bordes enteros o convexos de textura lisa, blancas y sin pigmento[34].

***a. Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103**

Bacteria gram positiva, anaerobia facultativa, con forma de bastoncillo, no forma esporas. La cepa *Lactobacillus rhamnosus GG* (LGG), fue aislada en 1983 de un adulto sano y se registraron en la ATCC con el número 53103[35]. LGG presenta mayor adhesión en las células de la mucosa por la proteína adhesiva LGG-186, estimula la actividad inmune con el aumento de IgA, IgM, IgG, asimismo, promueve la producción de moco intestinal que interviene en la regulación positiva de mucinas epiteliales MUC2 y MUC3 mRNA, simultáneamente inhibe la adhesión de enteropatógenas[36].

Por otro lado, produce microcine, es resistente al calor y proteasas, además, 7 péptidos poseen actividad antimicrobiana contra gram-negativos (E. *coli* EAEC 042 y *Salmonella typhi)* y *Staphylococcus aureus* (gram-positivo)[36].

***b. Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356™**

Bacteria gram positiva, homofermentativa o microaerófilo, con forma de bastoncillo, produce la mayor cantidad de ácido láctico, la temperatura adecuada de crecimiento es de 30-45°C con un pH 4-5. En la fermentación de alimentos aporta sabores y texturas únicas[37], asimismo, es resistente a la tetraciclina. La cepa aislada del microbiota humano fue registrada en ATCC con el número 4356. Por otro lado, produce bacteriocinas, como la acidocina B o CH5 generado por *L. acidophilus* cepa M46 y *L. acidophilus* CH5 respectivamente, ambas cepas inhiben el crecimiento de microorganismo enteropatógenos (*L. monocytogenes*, *C. sporegenes*, *Arthrobacter* spp., *Bacillus* spp. *y Corynebacterium* spp)[38].

2.2.3 Prebióticos

Fibras solubles, pero no digeribles que estimulan el crecimiento específico de algunos microorganismos a nivel del colon, modifican el balance de la microbiota intestinal para inhibir el crecimiento de bacterias no deseables para la salud[39].

Entre sus principales beneficios se encuentra la producción de propiónico, acético y butírico que son ácidos grasos de cadenas cortas que son fuente de energía para células epiteliales colónicas que cumplen funciones de motilidad colónica, diferenciación celular, entre otros. Además, los prebióticos, mejoran el volumen fecal, disminuyen los niveles de colesterol LDL, asimismo, incrementan la biodisponibilidad de Ca, Fe y Mg mejorando su absorción[32].

Los prebióticos deben ser resistentes a la degradación, hidrolisis y absorción durante el tracto gastrointestinal, de igual manera, ser fermentado por las bacterias del colón, principalmente a microorganismos anaerobios inhibiendo el crecimiento de bacterias no deseables[32].

2.2.4 Simbióticos

Producto de la combinación de prebióticos y probióticos, trabajan de manera sinérgica, aumentando la supervivencia y actividad *in vivo* de los probióticos, equilibrando y manteniendo saludable el microbiota intestinal. Es importante destacar que la eficacia de los prebióticos se ve mejorada ya que estos no son digeridos completamente a lo largo del tracto intestinal, lo que los convierte en un sustrato para los probióticos, mejorando su supervivencia. Además, la disminución del pH del medio favorece el desarrollo de

bifidobacterias y lactobacilos, reduciendo la cantidad de microorganismos no deseables para el cuerpo[32,40].

El uso de simbióticos ayuda a controlar los niveles de glucemia y reducir el colesterol en la sangre, así como, a equilibrar la flora intestinal saludable, lo que disminuye la probabilidad de padecer estreñimiento o diarrea, mejora la permeabilidad intestinal y estimula el sistema inmunológico, asimismo, favorecen la producción de ácidos grasos de cadena corta lo que a su vez aumenta la biodisponibilidad y mejor absorción de diversos minerales (calcio, magnesio y hierro)[39]

Para que un producto listo para el consumo sea viable, se recomienda una cantidad diaria mínima de probióticos 10^9 UFC (Tabla1)[41] y con un mínimo de prebióticos de 4 g/día de FOS o inulina para estimular el crecimiento de bifidobacterias. Se ha comprobado que 10 g/día de FOS es una dosis óptima bien tolerada en la porción prebiótica. Es importante destacar que el consumo de 14 g/día o superior de inulina puede provocar ocasionar malestar intestinal[39].

Tabla 1. Dosis sugeridas de los probióticos para diarrea asociada a antibióticos.

	Dosis/ UFC	**Cantidad por día**
Lactobacillus reuteri	5×10^8	2
Lactobacillus acidophilus	$>10^{10}$	1
Lactobacillus rhamnosus	10^{10}	2

Fuente: adaptado de Guarner et al [41].

2.2.5 *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja" "pitahaya roja"

Hylocereus monacanthus comúnmente conocida como "pitahaya roja" es una planta de la familia Cactaceae, originaria de la Selva peruana y Centroamérica, el fruto presenta un peso entre 270- 335 g, cáscara rojo-púrpura con brácteolos sobresalientes, pulpa roja-fucsia de sabor agridulce y pequeñas semillas negras[42].

2.2.5.1 Composición del fruto de pitahaya roja

La pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja" presenta una humedad de 86, 32 ± 0,13; pH de 4,43 ± 0,01; acidez titulable (% ácido cítrico) 0,82 ± 0,017; °Brix 13,93 ± 0,12; ARD (%) 10,65 ± 0,25[43]. El fruto de pitahaya roja contiene betacaroteno, licopeno y vitamina E, con concentraciones promedio de 1,4 μg/100 g, 3,4 μg/100 g y 0,26 μg/100 g, respectivamente. La semilla de la fruta del dragón contiene un 50% de ácidos grasos esenciales, siendo un 48% ácido linoleico (C18:2) y un 1,5% ácido linolénico (C18:3)[44]. Además, se destaca por ser fuente natural de prebióticos,

debido a que; posee oligosacáridos (27,40%)[44] como los fructooligosacáridos (FOS), principalmente carbohidratos de cadena corta, similar al de la pulpa blanca, pero es más costoso. Está compuesto principalmente por fructanos de aproximadamente 10 unidades de fructosa en su cadena, siendo muy beneficioso para la disminución del cáncer colorrectal[42]. Los carbohidratos de cadena corta se fermentan rápidamente en el colon, generando menos gas que los de cadena larga. Esto produce ácidos grasos beneficiosos, como acetato, propionato y butirato, que tienen efectos positivos en el cuerpo, incluida la promoción de la salud del colon. Además, un oligosacárido resistente a la digestión estimula el crecimiento de microorganismos, principalmente al género *Lactobacillus*[45].

2.2.6 Bebida simbiótica a base de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja"

La bebida simbiótica a base de pulpa de "pitahaya roja" como fuente natural de prebiótico, fermentada por dos probióticos *Lactobacillus rhamnosus* ATCC® 53103™ y *Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356™[43].

2.2.7 Efecto antagónico *in vitro*

El efecto antagónico *in vitro* se refiere a la capacidad de las bebidas simbióticas para detener el crecimiento o la actividad de bacterias enteropatógenas cuando se prueban en un entorno de laboratorio bajo condiciones controlados s[46].

2.2.8 Glosario de términos

***In vitro*:** métodos experimentales desarrollados en laboratorio, bajo ambientes controlados[47].

Enteropatógenos: microorganismos con la capacidad de provocar enfermedades a nivel del tracto gastrointestinal[9].

Colonias: agrupación de un mismo tipo de microorganismo que se puede observar de manera macroscópica.

Bacteriocinas: péptidos antimicrobianos producidas por bacterias y arqueas, capaces de inhibir el crecimiento de microorganismos competidores[48].

III. HIPÓTESIS Y VARIABLES

3.1. Hipótesis

La bebida simbiótica a base de pulpa de pitahaya roja posee efecto antagónico *in vitro* frente a bacterias enteropatógenas transmitidos por alimentos.

3.2. Variables

3.2.1. Variable dependiente:

Efecto antagónico sobre las bacterias enteropatógenas transmitidas por alimentos.

3.2.2. Variable independiente:

Concentración (dosis) de la bebida simbiótica en el medio del cultivo.

3.3. Operacionalización de variables (ANEXO 1)

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Área de estudio:

Se realizó en el Laboratorio de Microbiología y Biotecnología del departamento Microbiología y Parasitología Aplicada de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, ubicado en Jirón Puno 1002, distrito Cercado de Lima, provincia de Lima (Perú).

4.1.1. Consideraciones éticas:

Las cepas y reactivos utilizados se han eliminado conforme a las normativas del laboratorio.

4.2. Diseño de investigación

- **Experimental:** el efecto antagónico de la bebida simbiótica sobre las bacterias enteropatógenas transmitidas por alimentos, se realizó a diferentes concentraciones (1% y 2% de la bebida simbiótica) con relación al volumen del caldo TSB. Los datos necesarios se recolectaron a medida que se desarrolló el estudio, realizándose varias mediciones a lo largo del estudio.

4.3. Muestra

Muestra: bebida simbiótica a base de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja" y probióticos (*Lactobacillus rhamnosus* ATCC® 53103™ y *Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356™).

Cepas patógenas:

- *Salmonella* enterica subsp. enterica serovar Enteritidis ATCC® 13076™.
- *Shigella flexneri* ATCC® 9199™.
- *Listeria monocytogenes* ATCC® 7644™.

4.4. Métodos

4.4.1. Obtención de la bebida simbiótica a base de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja".

La bebida simbiótica de la pulpa de pitahaya roja fue proporcionada por el "Grupo de Investigación Innovación, desarrollo y evaluación de los productos funcionales" de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. La bebida simbiótica recientemente preparada utilizada en los ensayos, contiene oligosacáridos de la pitahaya roja fermentada con *Lactobacillus rhamnosus* ATCC® 53103™ y *Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356™, se encuentra en proceso de registro de propiedad intelectual[43].

4.4.2. Evaluación organoléptica, fisicoquímica, recuento de probióticos y cuantificación de fibra dietética de la bebida simbiótica de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja".

4.4.2.1. Organoléptica

Se evaluó parámetros de color, olor, sabor y apariencia de la bebida simbiótica formulada a base de la pulpa de pitahaya roja[49].

4.4.2.2. Fisicoquímica

Los siguientes ensayos se evaluaron por triplicado:

- **pH:** se realizó mediante potenciometría, para ello se utilizó 5 mL de la bebida simbiótica, se midió potenciómetro correctamente calibrado con buffer de pH 4,7 y 10 (AOAC, 2019)[50]
- **Grados Brix:** se realizó mediante refractometría, para ello se filtró una cantidad de la bebida, se colocó una gota del filtrado en la prima del refractómetro previamente calibrado (AOAC, 2019)[50]
- **Porcentaje de acidez:** se realizó mediante potenciometría (AOAC, 2019)[50], para ello se colocó 5 mL de la bebida simbiótica en un matraz, se tituló con una solución de NaOH 0,1 N hasta pH 8,2. El porcentaje de acidez se expresó como mL ácido láctico/100 mL de la bebida simbiótica y se calculó utilizando la ecuación:

$$\%acidez\ (g.de\ ác.láctico\ 100mL) = \frac{v * C * f * 100}{V}$$

Dónde:

v: volumen de NaOH gastado en la titulación.

C: Concentración de la solución de NaOH valorada.

f: factor de conversión de equivalencia ácido láctico (0,0090).

V: volumen de la bebida simbiótica (mL).

4.4.2.3. Determinación de fibra dietética

El método oficial AOAC 991.43 para la determinación de fibra dietética en la bebida simbiótica se ejecutó utilizando el método enzimático- gravimétrico con un kit de ensayo (Supelco)[43,51]. Para calcular los valores de %Fibra dietética se empleó la fórmula:

% Fibra dietética = [(R - B) / M] x 100

Donde:

R: residuos de fibra (en gramos)

B: muestra en blanco (en gramos)

M: peso de la muestra de bebida (mL)

a. Digestión enzimática.

Se realizó por duplicado para la bebida simbiótica (muestra) y blanco, en un vaso precipitado se agregó 2 mL de la bebida simbiótica y 40 mL de solución tampón MES/TRIS y en otro vaso se agregó sólo solución tampón (blanco). Ambos vasos precipitados se ajustaron a un pH de 8,3 con hidróxido de sodio al 5%, se agregó 50 μL de α-amilasa y se incubó a 98°Cx 30 minutos, posteriormente se agregó 50 μL de proteasa y se colocó a 60°Cx 30 minutos. Luego se agregó 5,5 mL de ácido clorhídrico y se ajustó a un pH 4 – 4,7 a 60°C con NaOH al 5%. Por último, se agregó 150 μL amiloglucasidasa y se colocó a 60°C x 30 minutos.

b. Contenido de fibra dietética insoluble – FDI

Los líquidos obtenidos en la digestión enzimática se filtraron en embudos Buchner, los residuos se arrastraron con 30 mL de agua a 70°C, posteriormente se dejó secar a 105°C en una estufa durante toda la noche, se dejó enfriar y se pesó en una balanza digital.

c. Contenido de fibra dietética soluble – FDS

El líquido que se filtró en FDI se transfirió a vasos precipitados, y se agregó a 60°C de etanol al 95%, 4 veces más al volumen filtrado, se dejó reposar durante 1 hora a temperatura ambiente. Después se filtró mediante ligero vacío con embudos Buchner de porcelana con papel filtro, los residuos se arrastraron con etanol al 78% (15 mL). El papel filtro se retiró después del filtrado, dejándose secar por 16 horas a 105°C, se dejó enfriar y se pesó en una balanza digital.

d. Contenido de fibra dietética total - FDT

El contenido de FDT en la bebida simbiótica es la suma de FDI y FDS.

4.4.2.4. Recuento de probióticos

***a. Lactobacillus rhamnosus* ATCC® 53103™**

La cantidad viable de *Lactobacillus rhamnosus* ATCC® 53103™ se evaluó mediante recuento en placa en agar MRS, se tomó 1 mL de la bebida simbiótica y se colocó en un tubo con 9 mL de suero fisiológico estéril, homogenizándose, luego con suero fisiológico, se realizó diluciones sucesivas hasta 10^{-8}. Se tomó 1 mL de las 3 últimas diluciones se vertió en una placa mezclándose con 24 mL de agar MRS a 45°C, luego se mezcló con movimientos circulares en sentido horario y antihorario, se incubó a 37ºC x 48 h en condiciones anaerobias[52]. Para determinación de UFC se tomó las placas con colonias blancas, grandes de bordes regulares que contengan de 30 a 300 colonias. El ensayo se realizó por triplicado.

***b. Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356™**

La cantidad viable de *Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356™ se evaluó mediante recuento en placa en agar MRS, para ello se colocó 1 mL de la bebida simbiótica con 9 mL de suero fisiológico estéril, homogenizándose, luego se realizó diluciones sucesivas hasta 10^{-8} con suero fisiológico. Se tomó 1 mL de las 3 últimas diluciones se vertió en una placa mezclándose con 24 mL de agar MRS a 45°C, luego se mezcló con movimientos circulares en sentido horario y antihorario, se incubó en anaerobiosis durante 48 horas a 37°C[53]. Para determinación de UFC se tomó las placas con colonias cremas, pequeñas de bordes irregulares que contengan de 30 a 300 colonias. El ensayo se realizó por triplicado.

4.4.3. Evaluación *in vitro* del efecto antagónico de la bebida simbiótica de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja" sobre cepas patógenas.

4.4.3.1. Obtención y activación de las cepas patógenas

Todas las cepas patógenas ATCC fueron adquiridas de un proveedor (GenLab). Las cepas patógenas fueron *Salmonella* Enteritidis ATCC® 13076™, *Listeria monocytogenes* ATCC® 7644™ y *Shigella flexneri* ATCC® 9199™.

Las bacterias *Salmonella* Enteritidis ATCC® 13076™ y *Shigella flexneri* ATCC® 9199™ para la activación se cultivaron en agar tripticasa soya (TSA) y se incubó a 37ºC por 24 h. Este medio se almacenaron para los posteriores ensayos *in vitro*[8,14].

Para la activación de *Listeria monocytogenes* ATCC® 7644™ se sembró en agar infusión cerebro-corazón (BHI) y se incubó a 37ºC durante 24 - 48h. A partir de este medio, se prepararon los cultivos jóvenes para los ensayos *in vitro*[54].

4.4.3.2 Evaluación del efecto antagónico *in vitro* de la bebida simbiótica a base de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja" frente a *Salmonella* Enteritidis ATCC® 13076™.

La evaluación del efecto *in vitro* de la bebida simbiótica frente a *Salmonella* Enteritidis ATCC® 13076™, se realizó en caldo tripticasa soya. Se preparó cuatro frascos de caldo TSB de un volumen conocido.

A partir del cultivo de agar TSA de 24 h, se preparó una suspensión bacteriana de *S.* Enteritidis ATCC® 13076™ de 0,5 escala de McFarland (equivalente a 1,5 x 10^8 UFC/mL). Una cantidad de la suspensión de *S.* Enteritidis ATCC® 13076™ se inoculó en tres frascos conteniendo en un volumen conocido de caldo TSB de tal manera que la

concentración bacteriana alcance $1x10^5$ UFC/mL con respecto al volumen del medio, tal como se muestra a continuación:

Tratamiento 1: Caldo TSB + *S.* Enteritidis ATCC® 13076™.

Tratamiento 2: Caldo TSB + *S.* Enteritidis ATCC® 13076™ + 1% Bebida simbiótica.

Tratamiento 3: Caldo TSB + *S.* Enteritidis ATCC® 13076™ + 2% Bebida simbiótica.

Tratamiento 4 (Control): Caldo TSB + *2*% Bebida simbiótica.

Todos los caldos fueron incubados a 37 ºC x 72 horas, durante el tiempo de incubación se medió el pH del medio, la viabilidad de *S.* Enteritidis ATCC® 13076™ a través de recuento en placa en agar XDL, *L. rhamnosus* ATCC 53103 y *L. acidophilus* ATCC 4356 mediante el recuento en agar MRS. Las mediciones se realizaron a las 0, 12, 24, 36, 48 y 72h[55].

4.4.3.3 Evaluación del efecto antagónico *in vitro* de la bebida simbiótica a base de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja" frente a *Shigella flexneri* ATCC® 9199™.

La evaluación del efecto *in vitro* de la bebida simbiótica frente a *Shigella flexneri* ATCC® 9199™ se realizó en caldo tripticasa soya. Se preparó cuatro frascos de caldo TSB de un volumen conocido[8].

A partir de un cultivo joven en agar TSA se preparó una suspensión bacteriana de *Shigella flexneri* ATCC® 9199™ a una concentración correspondiente a la escala 0,5 de McFarland, equivalente a $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. Una cantidad de la suspensión de *Shigella flexneri* ATCC® 9199™ se inoculó en tres frascos conteniendo en un volumen conocido de caldo TSB de tal manera que la concentración bacteriana alcance $1x10^5$ UFC/mL con respecto al volumen del medio, tal como se muestra a continuación:

Tratamiento 1: Caldo TSB + *Shigella flexneri* ATCC® 9199™

Tratamiento 2: Caldo TSB + *Shigella flexneri* ATCC® 9199™ +1% Bebida simbiótica.

Tratamiento 3: Caldo TSB + *Shigella flexneri* ATCC® 9199™ + 2% Bebida simbiótica.

Tratamiento 4 (Control): Caldo TSB + *2*% Bebida simbiótica.

Todos los caldos fueron incubados a 37 ºC x 72 horas, durante el tiempo de incubación se medió el pH del medio, la viabilidad de *Shigella flexneri* ATCC® 9199™ a través de recuento en placa en agar Hektoen, *L. rhamnosus* ATCC® 53103™ *y L. acidophilus* ATCC 4356 mediante el recuento en agar MRS. Las mediciones se realizaron a las 0, 12, 24, 36, 48 y 72h.

4.4.3.4 Evaluación del efecto antagónico *in vitro* de la bebida simbiótica a base de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja" frente a *Listeria monocytogenes* ATCC® 7644™.

La evaluación del efecto *in vitro* de la bebida simbiótica frente a *Listeria monocytogenes* ATCC® 7644™ se realizó en caldo tripticasa soya. Se preparó cuatro frascos de caldo TSB de un volumen conocido.

A partir de un cultivo joven en agar BHI se preparó una suspensión bacteriana de *Listeria monocytogenes* ATCC® 7644™ a una concentración correspondiente a la escala 0,5 de McFarland, equivalente a 1,5 x 10^8 UFC/mL. Una cantidad de la suspensión de *Listeria monocytogenes* ATCC® 7644™ se inoculó en tres frascos conteniendo en un volumen conocido de caldo TSB de tal manera que la concentración bacteriana alcance 1x10^5 UFC/mL con respecto al volumen del medio, tal como se muestra a continuación:

Tratamiento 1: Caldo TSB + *Listeria monocytogenes* ATCC® 7644™

Tratamiento 2: Caldo TSB + *Listeria monocytogenes* ATCC® 7644™ + 1% Bebida simbiótica.

Tratamiento 3: Caldo TSB + *Listeria monocytogenes* ATCC® 7644™ + 2% Bebida simbiótica.

Tratamiento 4 (Control): Caldo TSB + 2% Bebida simbiótica

Todos los caldos fueron incubados a 37 ºC x 72 horas, durante el tiempo de incubación se medió el pH del medio, la viabilidad de *Listeria monocytogenes* ATCC® 7644™ a través de recuento en placa en agar Oxford suplementado, *L. rhamnosus* ATCC® 53103™ y *L. acidophilus* ATCC 4356 mediante el recuento en agar MRS. Las mediciones se realizaron a las 0, 12, 24, 36, 48 y 72h[56].

4.4.4. Análisis estadístico

Los datos recopilados fueron organizados en Microsoft Excel. Posteriormente, se identificaron las diferencias significativas de la actividad antagónica de la bebida simbiótica frente a las tres bacterias enteropatógenas (*Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Enteritidis y *Shigella flexneri*), además, se llevó a cabo un análisis de varianza (ANOVA), seguida de una comparación entre las medias utilizando la prueba de rangos múltiples de Tukey con porcentaje de confianza de 95% ($p<0,05$). Estos análisis se realizaron con el programa Statgraphics Centurion XIX.

V. RESULTADOS

5.1. Evaluación organoléptica, fisicoquímico, recuento de probióticos y cuantificación de fibra dietética de la bebida simbiótica de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja".

En la tabla 2 se muestra las características organolépticas de la bebida simbiótica la cual presentó un color rojo púrpura.

Tabla 2. Características organolépticas de la bebida simbiótica de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja".

Atributos	Resultados
Color	Rojo púrpura
Olor	Característico (frutado)
Sabor	Ligeramente ácido y dulce
Apariencia	Líquido con semillas del fruto distribuidas homogéneamente

En la tabla 3 se evidencia las características fisicoquímicas de la bebida simbiótica presentó un pH ácido de 3,57 ± 0,02.

Tabla 3. Características fisicoquímicas de la bebida simbiótica de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja".

Características fisicoquímicas	($\bar{X}$ ± DS)
pH	3,57 ± 0,02
°Brix	14,00 ± 0,00
%Acidez titulable (ácido láctico)	0,21 ± 0,01

Promedio ± Desviación estándar (n=.3)

En la tabla 4 se muestra que la bebida simbiótica contiene una cantidad significativa de fibra dietética, con un promedio de fibra total 4,74 ± 0,06 g/100mL.

Tabla 4. Contenido de fibra dietética en la bebida simbiótica dividido por tipo insoluble (FDI), soluble (FDS) y total (FDT)

Muestra	FDI (g/100 mL)	FDS (g/100 mL)	FDT (g/100 mL)
Bebida simbiótica	3,70 ± 0,04	1,04 ± 0,02	4,74 ± 0,06

Promedio ± Desviación estándar (n=2)

En la tabla 5 se evidencia que, el recuento de *Lactobacillus rhamnosus* ATCC® 53103™ y *Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356™.

Tabla 5. Recuento de *L. rhamnosus* ATCC® 53103™ y *L. acidophilus* ATCC® 4356™ de la bebida simbiótica.

Microorganismo	(Log UFC/mL)
***Lactobacillus rhamnosus* ATCC® 53103™**	10,17 ± 0,04
***Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356™**	10,04 ± 0,01

Promedio ± Desviación estándar (n=3)

5.2. Evaluación del efecto antagónico *in vitro* de la bebida simbiótica a base de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja".

5.2.1. Evaluación del efecto antagónico *in vitro* de la bebida simbiótica a base de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja" frente a *Salmonella* Enteritidis ATCC® 13076™.

En la tabla 6 se observa que, el tratamiento de *Salmonella* Enteritidis + TSB inició con un pH 6,90 ± 0,10, alcanzando un máximo de 7,40 ± 0,09 a las 48 horas, luego disminuyó a 6,40 ± 0,02 a las 72 horas. En el tratamiento de *Salmonella* Enteritidis + TSB con 1% de bebida simbiótica el pH aumentó hasta las 48 horas (7,20 ± 0,01), luego disminuyó hasta alcanzar el valor de 5,60 ± 0,01 a las 72 horas. En el tratamiento de *Salmonella* Enteritidis + TSB con 2% de bebida simbiótica el mayor valor (6,90 ± 0,01) de pH alcanzó a las 48 h, luego cayó a 4,98 ± 0,02 a las 72 horas. En el tratamiento de TSB + 2% de bebida simbiótica (control), disminuyó gradualmente hasta 4,06 ± 0,05 a las 72 horas.

Tabla 6. Variación de pH en cada tratamiento durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica frente a *Salmonella* Enteritidis

Tratamiento	Tiempo de incubación (h)						
	0	12	24	36	48	60	72
Salmonella Enteritidis + TSB	6,90 ± 0,10^{c}	6,94 ± 0,04^{c}	7,00 ± 0,10^{bc}	7,1 ± 0,10^{b}	7,40 ± 0,09^{a}	6,62 ± 0,01^{d}	6,40 ± 0,02^{e}
Salmonella Enteritidis + TSB + 1% bebida simbiótica	6,60 ± 0,10^{d}	6,70 ± 0,05^{c}	6,82 ± 0,02^{b}	6,88 ± 0,02^{b}	7,20 ± 0,01^{a}	6,20 ± 0,02^{e}	5,60 ± 0,01^{f}
Salmonella Enteritidis + TSB + 2% bebida simbiótica	6,40 ± 0,03^{e}	6,62 ± 0,02^{d}	6,80 ± 0,02^{c}	6,84 ± 0,02^{b}	6,90 ± 0,01^{a}	5,60 ± 0,02^{f}	4,98 ± 0,02^{g}
TSB + 2% bebida simbiótica	6,53 ± 0,06^{a}	5,73 ± 0,06^{b}	4,80 ± 0,02^{c}	4,63 ± 0,06^{d}	4,40 ± 0,01^{e}	4,19 ± 0,01^{f}	4,06 ± 0,05^{g}

TSB: Caldo Tripticasa Soya

Promedio ± Desviación estándar (n=3)

Letras diferentes indican diferencias significativas en cada tratamiento de acuerdo con la prueba estadística Tukey ($p < 0,05$)

En la figura 1 se muestra que, a las 60 horas se evidencia una reducción significativa de pH en el tratamiento con 2% bebida simbiótica con relación a los demás tratamientos. A las 72 h la reducción es significativa en los tratamientos con 1 y 2% de bebida simbiótica, sin embargo, la caída es mucho mayor en el tratamiento con 2% de bebida simbiótica (4,98 ± 0,02) en comparación del tratamiento sin bebida (6,40 ± 0,02).

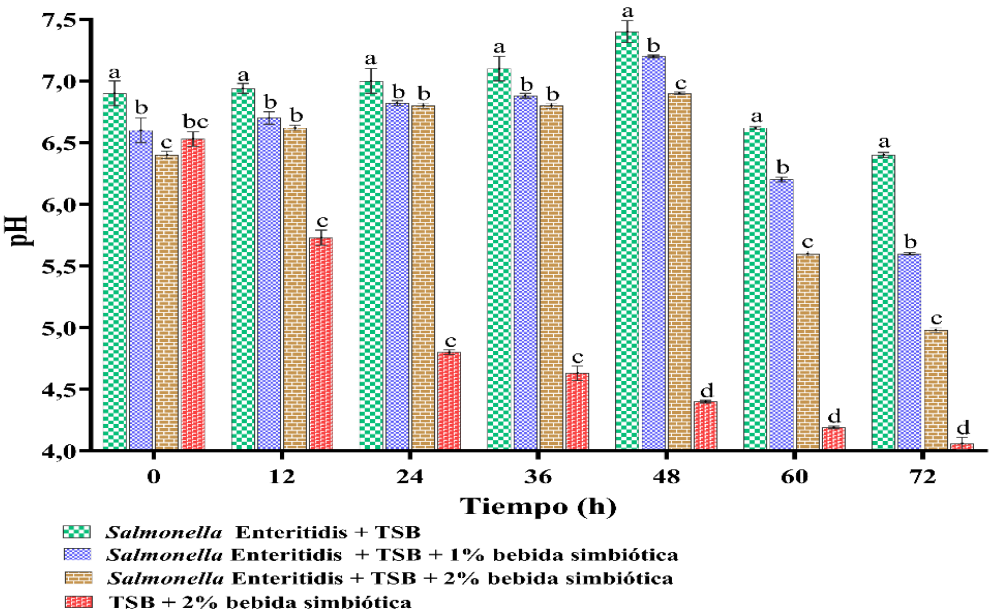


Figura 1. Variación de pH entre los tratamientos durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica frente a *Salmonella* Enteritidis

TSB: Caldo Tripticasa Soya
Letras diferentes indican diferencias significativas entre cada tratamiento de acuerdo con la prueba estadística Tukey ($p < 0,05$)

En la tabla 7 se muestran que, la cantidad de *Salmonella* Enteritidis + TSB, inició con 3,95 ± 0,07 Log UFC/mL, y aumentó progresivamente hasta alcanzar 8,04 ± 0,35 Log UFC/mL a las 48 horas, para posteriormente disminuir a las 72 horas (7,17 ± 0,29 Log UFC/mL). El tratamiento *Salmonella* Enteritidis + TSB 1% bebida simbiótica, inició en 4,02 ± 0,03 Log UFC/mL alcanzando su máximo crecimiento a las 48 horas (7,32 ± 0,47 Log UFC/mL), seguido de una ligera disminución a las 72 horas. En *Salmonella* Enteritidis + TSB + 2% bebida simbiótica, se incrementó a las 24 horas (6,24 ± 0,34 Log UFC/mL) y se mantuvo sin cambios significativos hasta las 72 horas de incubación.

Tabla 7. Cantidad de *Salmonella* Enteritidis en cada tratamiento durante el enfrentamiento con la bebida simbiótica

Tratamientos	Log UFC/mL			
	0 h	24 h	48 h	72 h
Salmonella Enteritidis + TSB	3,95 ± 0,07^{d}	6,30 ± 0,03^{c}	8,04 ± 0,35^{a}	7,17 ± 0,29^{b}
Salmonella Enteritidis + TSB + 1% bebida simbiótica	4,02 ± 0,03^{c}	6,26 ± 0,00^{b}	7,32 ± 0,47^{a}	6,84 ± 0,01^{ab}
Salmonella Enteritidis + TSB + 2% bebida simbiótica	3,95 ± 0,07^{b}	6,24 ± 0,34^{a}	6,88 ± 0,03^{a}	6,28 ± 0,39^{a}

TSB: Caldo Tripticasa Soya

Promedio ± Desviación estándar (n=3)

Letras diferentes indican diferencias significativas en cada tratamiento de acuerdo con la prueba estadística Tukey ($p < 0,05$)

En la figura 2 se observa que, a las 48 horas, se evidencia un cambio significativo en el tratamiento que involucra *Salmonella* Enteritidis + TSB, experimenta un marcado aumento en comparación en comparación del tratamiento con 1 y 2% de bebida simbiótica. Finalmente, a las 72 horas todos los tratamientos decrecen, sin embargo, el tratamiento que contiene *Salmonella* Enteritidis + TSB + 2% de bebida simbiótica continúa exhibiendo los valores más bajos (6,28 ± 0,39 Log UFC/mL) a diferencia del tratamiento sin bebida (7,17 ± 0,29).

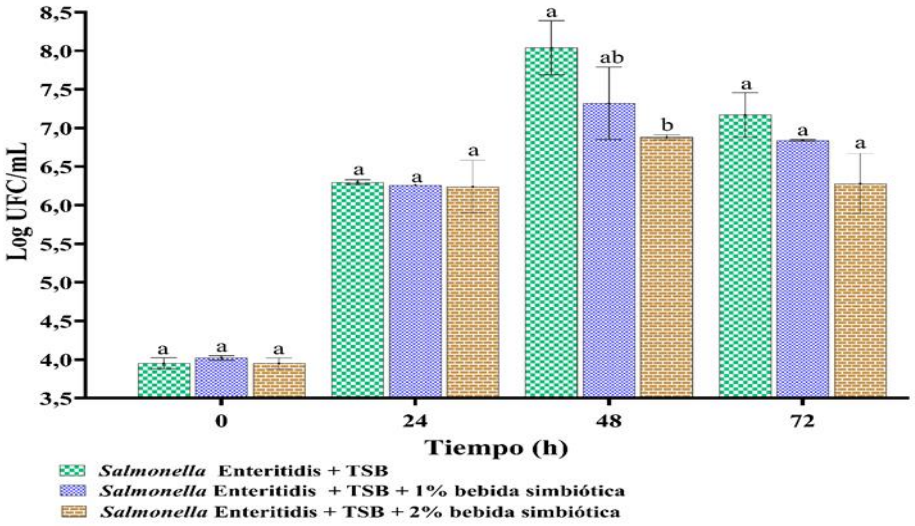


Figura 2. Cantidad de *Salmonella* Enteritidis entre tratamientos durante el enfrentamiento con la bebida simbiótica.

TSB: Caldo Tripticasa Soya

Letras diferentes indican diferencias significativas entre cada tratamiento de acuerdo con la prueba estadística Tukey ($p < 0,05$)

En la tabla 8 se muestra que, el recuento de *Lactobacillus rhamnosus* ATCC® 53103™ a las 0 horas, el tratamiento de *Salmonella* Enteritidis + TSB + 1% bebida simbiótica inicia con 7,36 ± 0,08 Log UFC/mL teniendo un crecimiento constante hasta las 48 horas alcanzando 9,56 ± 0,01 Log UFC/mL para luego descender 7,81 ± 0,04 Log UFC/mL. En el tratamiento *Salmonella* Enteritidis + TSB + 2% bebida simbiótica tiene un crecimiento superior al tratamiento sin la bebida y alcanza su máximo crecimiento a las 48 horas 10,04 ± 0,01 Log UFC/mL, luego desciende hasta 9,73 ± 0,01 Log UFC/mL a las 72 h. En el tratamiento de TSB + 2% de bebida simbiótica (control) presenta el mayor crecimiento (10,12 ± 0,01 Log UFC/mL) a las 24 h para luego descender gradualmente hasta 9,93 ± 0,01 Log UFC/mL a las 72 horas.

Tabla 8. Recuento de *Lactobacillus rhamnosus* ATCC® 53103™ para cada tratamiento durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica con *Salmonella* Enteritidis.

Tratamientos	**Log UFC/mL**			
	0 h	**24 h**	**48 h**	**72 h**
Salmonella Enteritidis + TSB + 1% bebida simbiótica	7,36 ± 0,08^{d}	8,11 ± 0,01^{b}	9,56 ± 0,01^{a}	7,81 ± 0,04^{c}
Salmonella Enteritidis + TSB + 2% bebida simbiótica	7,53 ± 0,06^{d}	8,42 ± 0,01^{c}	10,04 ± 0,01^{a}	9,73 ± 0,01^{b}
TSB + 2% bebida simbiótica	8,47 ± 0,01^{d}	10,12 ± 0,01^{a}	10,02 ± 0,01^{b}	9,93 ± 0,01^{c}

TSB: Caldo Tripticasa Soya
Promedio ± Desviación estándar (n=3)
Letras diferentes indican diferencias significativas en cada tratamiento de acuerdo con la prueba estadística Tukey ($p < 0,05$)

En la figura 3 se evidencia que, el recuento de *Lactobacillus rhamnosus* ATCC® 53103™ a las 48 horas los tratamientos que tienen el enteropatógeno alcanzan su máximo crecimiento y el control desciende. A las 72 horas todos los tratamientos descienden, viéndose más afectado *Salmonella* Enteritidis + TSB + 1% (7,81 ± 0,04 Log UFC/mL) bebida simbiótica a diferencia de los tratamientos *Salmonella* Enteritidis + TSB + 2% (9,73 ± 0,01 Log UFC/mL) bebida simbiótica y control (9,93 ± 0,01 Log UFC/mL).

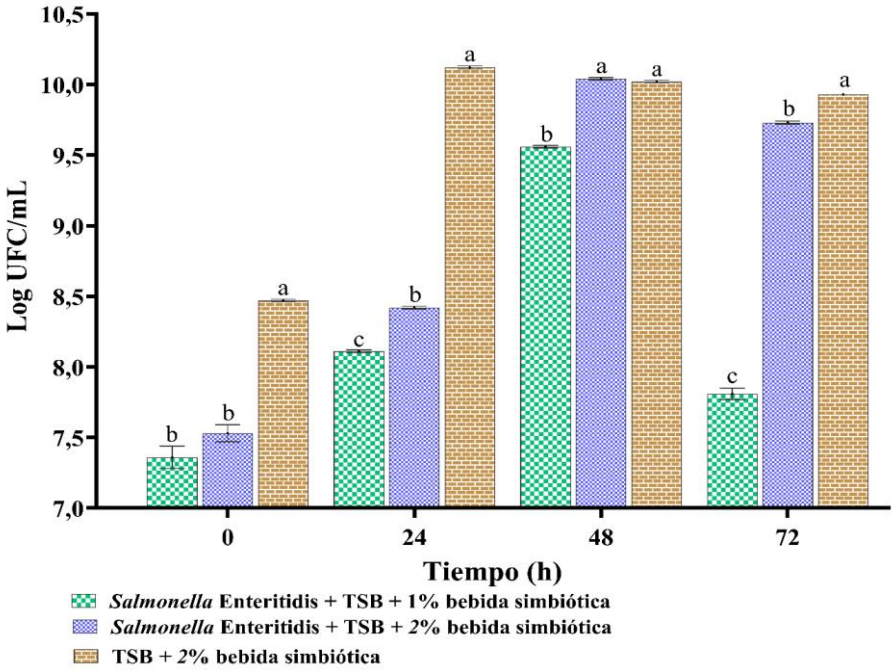


Figura 3. Recuento de *Lactobacillus rhamnosus* ATCC® 53103™ entre tratamientos durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica con *Salmonella* Enteritidis

TSB: Caldo Tripticasa Soya

Letras diferentes indican diferencias significativas entre cada tratamiento de acuerdo con la prueba estadística Tukey ($p < 0,05$)

En la tabla 9 se muestran los resultados de *Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356™ sobre la cantidad de *Salmonella* Enteritidis. A las 0 horas el tratamiento de *Salmonella* Enteritidis + TSB + 1% bebida simbiótica inicia con 6,99 ± 0,13 Log UFC/mL llegando a un máximo de 9,52 ± 0,01 Log UFC/mL a las 48 horas luego disminuyó a 7,64 ± 0,05 Log UFC/mL a las 72 horas. Para el tratamiento *Salmonella* Enteritidis + TSB + 2% bebida simbiótica inicia con un tratamiento de 7,30 ± 0,14 Log UFC/mL tiene un crecimiento superior al tratamiento que contiene el enteropatógeno y alcanza su máximo crecimiento a las 48 horas (10,04 ± 0,02 Log UFC/mL), posterior desciende hasta 9,65 ± 0,01 Log UFC/mL a las 72 horas. El tratamiento control (TSB + 2% bebida simbiótica) presenta el mayor crecimiento alcanza 10,09 ± 0,01 Log UFC/mL luego disminuyó gradualmente hasta 9,89 ± 0,01 Log UFC/mL a las 72 horas.

Tabla 9. Recuento de *Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356™ para cada tratamiento durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica con *Salmonella* Enteritidis.

Tratamientos	Log UFC/mL			
	0 h	24 h	48 h	72 h
Salmonella Enteritidis + TSB + 1% bebida simbiótica	6,99 ± 0,13^{d}	8,00 ± 0,01^{b}	9,52 ± 0,01^{a}	7,63 ± 0,05^{c}
Salmonella Enteritidis + TSB + 2% bebida simbiótica	7,30 ± 0,14^{d}	8,34 ± 0,02^{c}	10,02 ± 0,01^{a}	9,65 ± 0,01^{b}
TSB + 2% bebida simbiótica	8,42 ± 0,01^{d}	10,09 ± 0,01^{a}	9,98 ± 0,01^{b}	9,89 ± 0,01^{c}

TSB: Caldo Tripticasa Soya

Letras diferentes indican diferencias significativas en cada tratamiento de acuerdo con la prueba estadística Tukey ($p < 0,05$)

En la figura 4 se observa el crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356™ sobre la cantidad de *Salmonella* Enteritidis. A las 48 horas los tratamientos que tienen el enteropatógeno alcanzan su máximo crecimiento y el control. A las 72 horas todos los tratamientos descienden, viéndose más afectado *Salmonella* Enteritidis + TSB + 1% bebida simbiótica (7,63 ± 0,05 Log UFC/mL) en contraste a los tratamientos *Salmonella* Enteritidis + TSB + 2% bebida simbiótica (9,65 ± 0,01 Log UFC/mL) y control (9,89 ± 0,01 Log UFC/mL) que poseen los valores más altos.

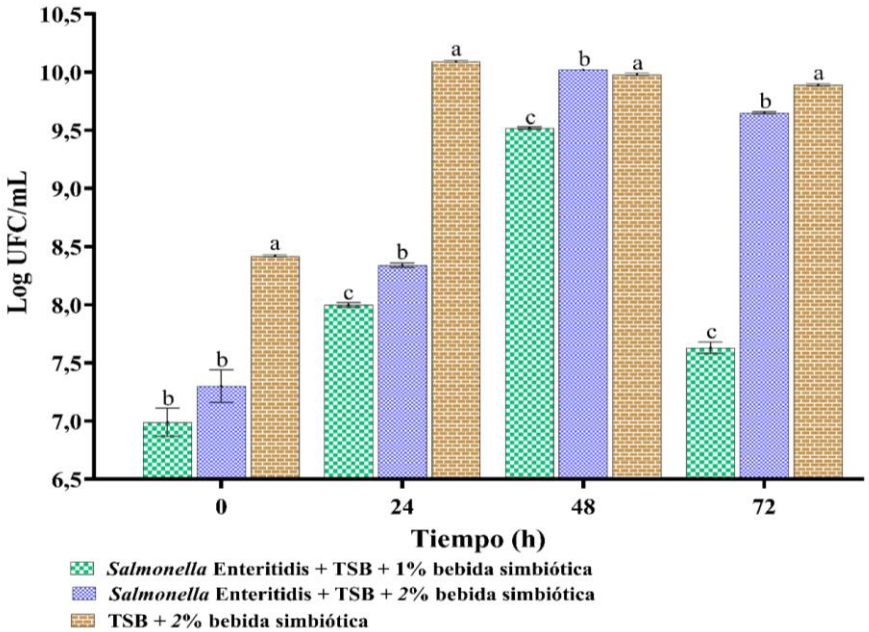


Figura 4. Recuento de *Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356™ entre tratamientos durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica con *Salmonella* Enteritidis

TSB: Caldo Tripticasa Soya

Letras diferentes indican diferencias significativas entre cada tratamiento de acuerdo con la prueba estadística Tukey ($p < 0,05$)

5.2.2 Evaluación del efecto antagónico *in vitro* de la bebida simbiótica a base de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja" frente *Shigella flexneri* ATCC® 9199™.

En la tabla 10 se muestran que, el tratamiento de *Shigella flexneri* + TSB inicia con un pH 6,80 ± 0,01 alcanzando un máximo de 7,32 ± 0,01 a las 48 horas, luego disminuyó a 6,40 ± 0,01 a las 72 horas. En el *Shigella flexneri* + TSB + 1% bebida simbiótica mostró un crecimiento progresivo hasta las 24 horas (6,89 ± 0,02) seguido de una disminución hasta alcanzar 4,77 ± 0,02 a las 72 horas. Para *Shigella flexneri* + TSB + 2% bebida simbiótica, inició con 6,40 ± 0,02 hasta alcanzar 4,50 ± 0,17 a las 72 horas. El tratamiento control (TSB + 2% bebida simbiótica), alcanza un pH de 5,73 ± 0,06 a las 12 horas para posteriormente disminuir gradualmente hasta las 72 horas 4,06 ± 0,05.

Tabla 10. Variación de pH para cada tratamiento durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica frente a *Shigella flexneri*.

Tratamientos	Horas						
	0	12	24	36	48	60	72
Shigella flexneri + TSB	6,80 ± 0,01^{c}	6,86 ± 0,01^{bc}	6,90 ± 0,20^{bc}	6,95 ± 0,04^{b}	7,32 ± 0,01^{a}	6,8 ± 0,02^{c}	6,40 ± 0,01^{d}
Shigella flexneri + TSB + 1% bebida simbiótica	6,50 ± 0,02^{c}	6,72 ± 0,00^{b}	6,89 ± 0,02^{a}	6,44 ± 0,01^{d}	6,08 ± 0,03^{e}	5,39 ± 0,02^{f}	4,77 ± 0,02^{g}
Shigella flexneri + TSB + 2% bebida simbiótica	6,40 ± 0,02^{c}	6,65 ± 0,01^{b}	6,86 ± 0,02^{a}	6,39 ± 0,02^{c}	5,30 ± 0,01^{d}	4,80 ± 0,005^{e}	4,50 ± 0,17^{f}
TSB + 2% bebida simbiótica	6,53 ± 0,06^{a}	5,73 ± 0,06^{b}	4,80 ± 0,02^{c}	4,63 ± 0,06^{d}	4,40 ± 0,01^{e}	4,19 ± 0,01^{f}	4,06 ± 0,05^{g}

TSB: Caldo Tripticasa Soya
Promedio ± Desviación estándar (n=3)
Letras diferentes indican diferencias significativas en cada tratamiento de acuerdo con la prueba estadística Tukey ($p < 0,05$)

En la figura 5 se observa que, a las 24 horas los tratamientos que contienen al enteropatógeno *Shigella flexneri* presentan valores más altos a diferencia del tratamiento control que a partir de las 12 horas empieza a decrecer. A las 48 horas, donde se aprecia un cambio significativo específicamente, el tratamiento que involucra TSB + 2% bebida simbiótica, experimenta una marcada reducción (4,40 ± 0,01) en comparación del tratamiento sin bebida (7,32 ± 0,01). A las 48 horas todos los tratamientos decrecen, siendo más notable en aquellos que contienen un % de bebida simbiótica, manteniéndose esta tendencia hasta alcanzar las 72 horas.

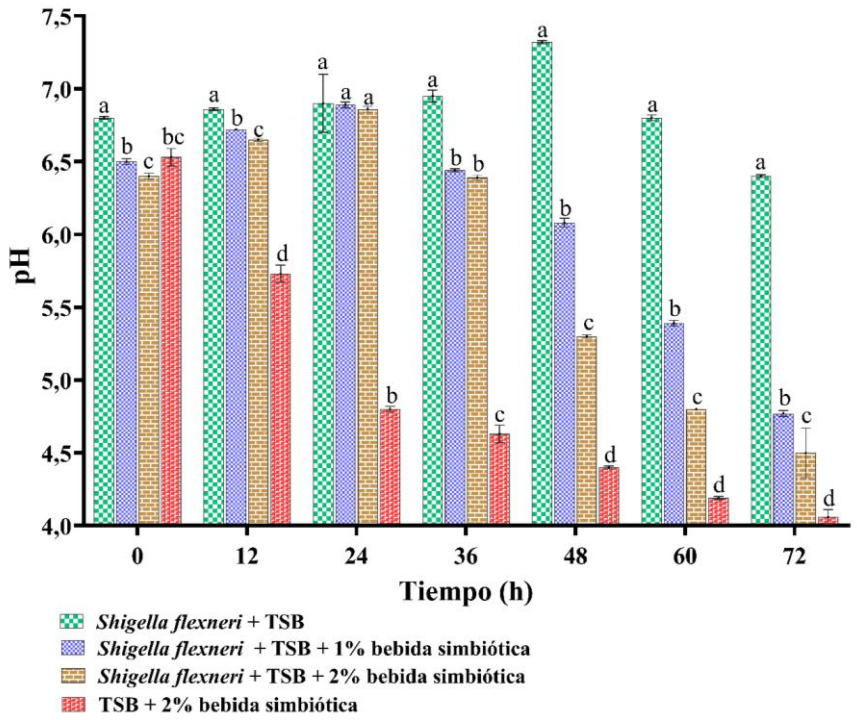


Figura 5. Variación de pH entre los tratamientos durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica frente a *Shigella flexneri*

TSB: Caldo Tripticasa Soya

Letras diferentes indican diferencias significativas entre cada tratamiento de acuerdo con la prueba estadística Tukey ($p < 0,05$)

En la tabla 11 se muestra que, los valores iniciales de *Shigella flexneri* + TSB inició con 3,97 ± 0,03 Log UFC/mL, alcanzando un máximo de 7,76 ± 0,02 Log UFC/mL, para posteriormente disminuir a las 72 horas (7,68 ± 0,29 Log UFC/mL). Los valores obtenidos para *Shigella flexneri* + TSB + 1% bebida simbiótica, inició con 4,00 ± 0,00 alcanzando su máximo crecimiento a las 24 horas (6,48 ± 0,00 Log UFC/mL), con una disminución progresiva hasta las 72 horas (3,90 ± 0,07 Log UFC/mL). Siendo el caso de *Shigella flexneri* + TSB + 2% bebida simbiótica alcanza su máximo crecimiento a las 24 horas (6,44 ± 0,06 Log UFC/mL) y decrece hasta 3,78 ± 0,00 Log UFC/mL a las 72 horas.

Tabla 11. Cantidad de *Shigella flexneri* en cada tratamiento durante el enfrentamiento con la bebida simbiótica.

Tratamientos	Log UFC/mL			
	0 h	24 h	48 h	72 h
Shigella flexneri + TSB	3,97 ± 0,03^{c}	6,63 ± 0,04^{b}	7,76 ± 0,02^{a}	7,68 ± 0,02^{a}
Shigella flexneri + TSB + 1% bebida simbiótica	4,00 ± 0,00^{c}	6,48 ± 0,00^{a}	5,54 ± 0,08^{b}	3,90 ± 0,07^{c}
Shigella flexneri + TSB + 2% bebida simbiótica	3,00 ± 0,00^{d}	6,44 ± 0,06^{a}	4,00 ± 0,00^{b}	3,78 ± 0,00^{c}

TSB: Caldo Tripticasa Soya
Promedio ± Desviación estándar (n=3)
Letras diferentes indican diferencias significativas en cada tratamiento de acuerdo con la prueba estadística Tukey ($p < 0,05$)

En la figura 6 se observa que, a las 48 horas el tratamiento con *Shigella flexneri* alcanzó su máximo crecimiento (7,76 ± 0,02 Log UFC/mL) en contraste con el tratamiento con 2% bebida simbiótica (4,00 ± 0,00 Log UFC/mL), a las 72 horas todos los tratamientos tienden a disminuir, siendo el tratamiento con 2% de bebida el más afectado (3,78 ± 0,00 Log UFC/mL).

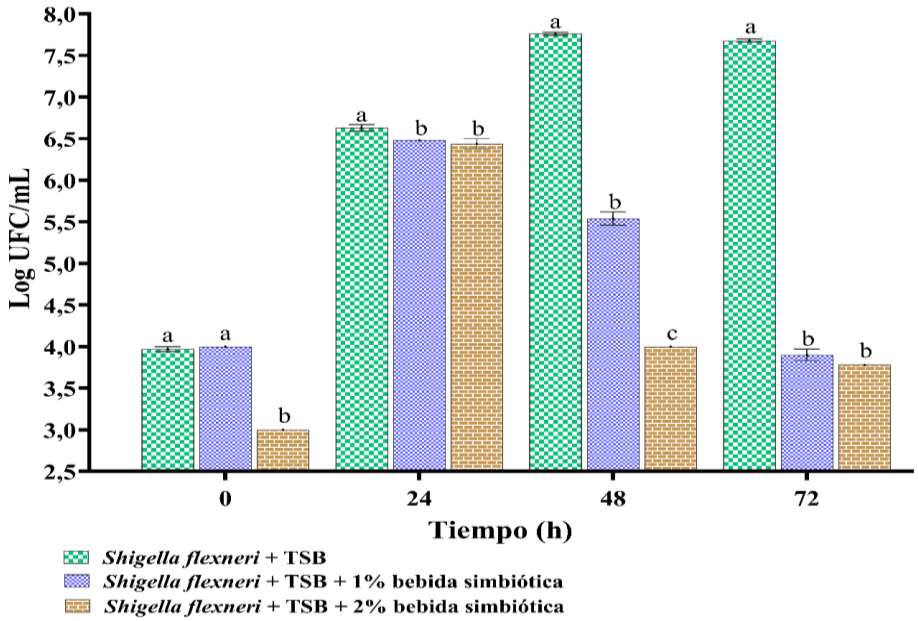


Figura 6. Cantidad de *Shigella flexneri* entre los tratamientos durante el enfrentamiento con la bebida simbiótica.

TSB: Caldo Tripticasa Soya
Letras diferentes indican diferencias significativas entre cada tratamiento de acuerdo con la prueba estadística Tukey ($p < 0,05$)

En la tabla 12 se muestra que, el recuento de *Lactobacillus rhamnosus* ATCC® 53103™ a las 0 horas, el tratamiento de *Shigella flexneri* + TSB + 1% bebida simbiótica inició con 7,23 ± 0,08 Log UFC/mL, alcanzando un máximo 10,00 ± 0,01 Log UFC/mL a las 24 horas para luego descender a 9,52 ± 0,04 Log UFC/mL a las 72 horas. Para el tratamiento *Shigella flexneri* + TSB + 2% bebida simbiótica inició con 8,35 ± 0,06 alcanzando un máximo de 10,00 ± 0,01 Log UFC/mL a las 24 horas, luego disminuyó a 9,53 ± 0,01 Log UFC/mL a las 72 horas. El tratamiento control (TSB+ 2% bebida simbiótica) alcanzó su máximo crecimiento de 10,12 ± 0,01 Log UFC/mL a las 24 horas, para luego descender a9,93 ± 0,01 Log UFC/mL a las 72 horas.

Tabla 12. Recuento de *Lactobacillus rhamnosus* ATCC® 53103™ para cada tratamiento durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica con *Shigella flexneri*.

Tratamientos	**Log UFC/mL**			
	0 h	**24 h**	**48 h**	**72 h**
Shiguella flexneri + TSB + 1% bebida simbiótica	7,23 ± 0,07^{b}	10,00 ± 0,01^{b}	9,60 ± 0,00^{c}	9,52 ± 0,01^{b}
Shiguella flexneri + TSB + 2% bebida simbiótica	8,35 ± 0,06^{c}	10,00 ± 0,01^{a}	9,76 ± 0,01^{b}	9,53 ± 0,01^{b}
TSB + 2% bebida simbiótica	8,47 ± 0,01^{d}	10,12 ± 0,01^{a}	10,02 ± 0,01^{b}	9,93 ± 0,01^{c}

TSB: Caldo Tripticasa Soya
Promedio ± Desviación estándar (n=3)
Letras diferentes indican diferencias significativas en cada tratamiento de acuerdo con la prueba estadística Tukey ($p < 0,05$)

En la figura 7 se evidencia que, la cantidad de *Lactobacillus rhamnosus* ATCC® 53103™ en el tratamiento con *Shiguella flexneri* + TSB + 1% bebida simbiótica inició con 7,23 ± 0,07 Log UFC/mL llegando a un máximo de 10,00 ± 0,01 Log UFC/mL, luego disminuyó 9,52 ± 0,01 Log UFC/mL a las 72 h. En el tratamiento de *Shiguella flexneri* + TSB + 2% bebida simbiótica inició con 8,35 ± 0,06 Log UFC/mL llegando a un máximo de 10,00 ± 0,01 Log UFC/mL, luego disminuyó 9,53 ± 0,01 Log UFC/mL a las 72 horas. En el tratamiento de TSB + 2% de bebida simbiótica (control), presenta el mayor crecimiento a las 24 horas (10,12 ± 0,01 Log UFC/mL) para luego descender gradualmente hasta 4,06 ± 0,05 Log UFC/mL a las 72 horas.

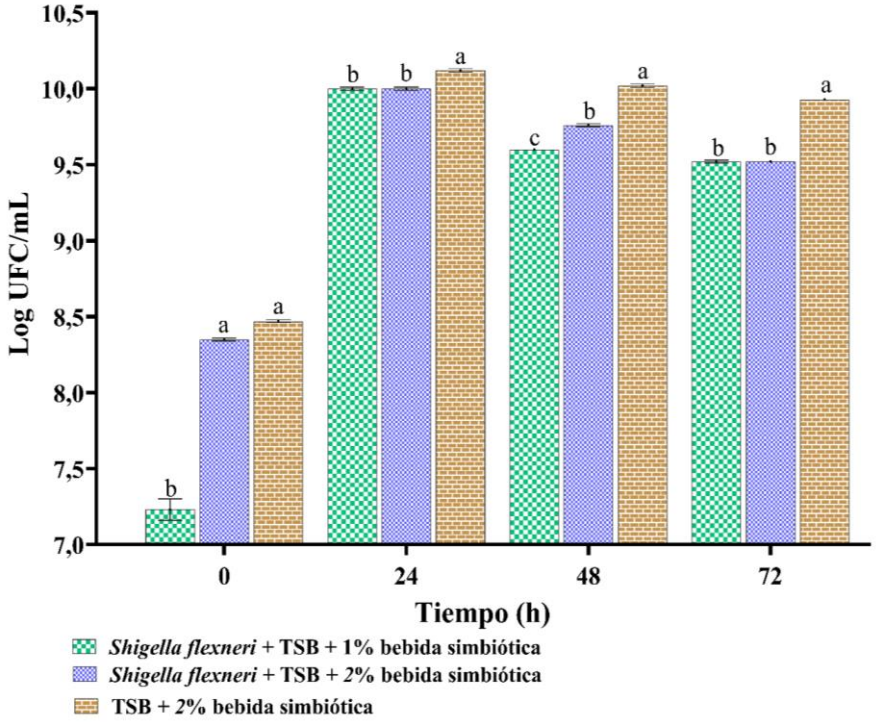


Figura 7. Recuento de *Lactobacillus rhamnosus* ATCC® 53103™ entre los tratamientos durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica con *Shigella flexneri*.

TSB: Caldo Tripticasa Soya

Letras diferentes indican diferencias significativas entre cada tratamiento de acuerdo con la prueba estadística Tukey ($p < 0,05$)

En la tabla 13 se muestran los resultados de *Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356™ sobre la cantidad de *Shigella flexneri*. A las 0 horas el tratamiento de *Shigella flexneri* + TSB + 1% Bebida simbiótica inició con 6,93 ± 0,21 Log UFC/mL alcanzando 9,98 ± 0,01 Log UFC/mL siendo el máximo crecimiento, para luego descender 9,41 ± 0,01 Log UFC/mL. En el tratamiento *Shigella flexneri* + TSB + 2% bebida simbiótica inició con 8,13 ± 0,03 Log UFC/mL alcanzando su máximo crecimiento a las 24 horas 9,99 ± 0,01 posteriormente desciende a 9,45 ± 0,01 Log UFC/mL. El tratamiento control (TSB + 2% bebida simbiótica) presenta el mayor crecimiento de 10,09 ± 0,01 Log UFC/mL a las 24 horas, luego disminuye hasta 9,89 ± 0,01 Log UFC/mL a las 72 horas.

Tabla 13. Recuento de *Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356™ para cada tratamiento durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica con *Shigella flexneri*.

Tratamientos	Log UFC/mL			
	0 h	24 h	48 h	72 h
Shiguella flexneri + TSB + 1% bebida simbiótica	6,93 ± 0,21^{c}	9,98 ± 0,01^{a}	9,55 ± 0,01^{b}	9,41 ± 0,01^{b}
Shiguella flexneri + TSB + 2% bebida simbiótica	8,13 ± 0,02^{d}	9,99 ± 0,01^{a}	9,66 ± 0,01^{b}	9,45 ± 0,01^{c}
TSB + 2% bebida simbiótica	8,42 ± 0,01^{d}	10,09 ± 0,01^{a}	9,98 ± 0,01^{b}	9,89 ± 0,01^{c}

TSB: Caldo Tripticasa Soya
Promedio ± Desviación estándar (n=3)
Letras diferentes indican diferencias significativas en cada tratamiento de acuerdo con la prueba estadística Tukey ($p < 0,05$)

En la figura 8 se evidencia el crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356™ sobre la cantidad de *Shigella flexneri*. El tratamiento de *Shiguella flexneri* + TSB + 1% bebida simbiótica inició con 6,93 ± 0,21 Log UFC/mL, a las 24 hora alcanzó su máximo crecimiento 9,98 ± 0,01 luego disminuyó a 9,41 ± 0,01 Log UFC/mL a las 72 horas. En el tratamiento de *Shiguella flexneri* + TSB + 2% bebida simbiótica inició con 8,13 ± 0,02 Log UFC/mL, a las 24 hora alcanzó su máximo crecimiento 9,99 ± 0,01 Log UFC/mL luego disminuyó a 9,45 ± 0,01 Log UFC/mL a las 72 horas. En el tratamiento de TSB + 2% de bebida simbiótica (control), disminuyó gradualmente hasta 9,89 ± 0,01 Log UFC/mL a las 72 horas.

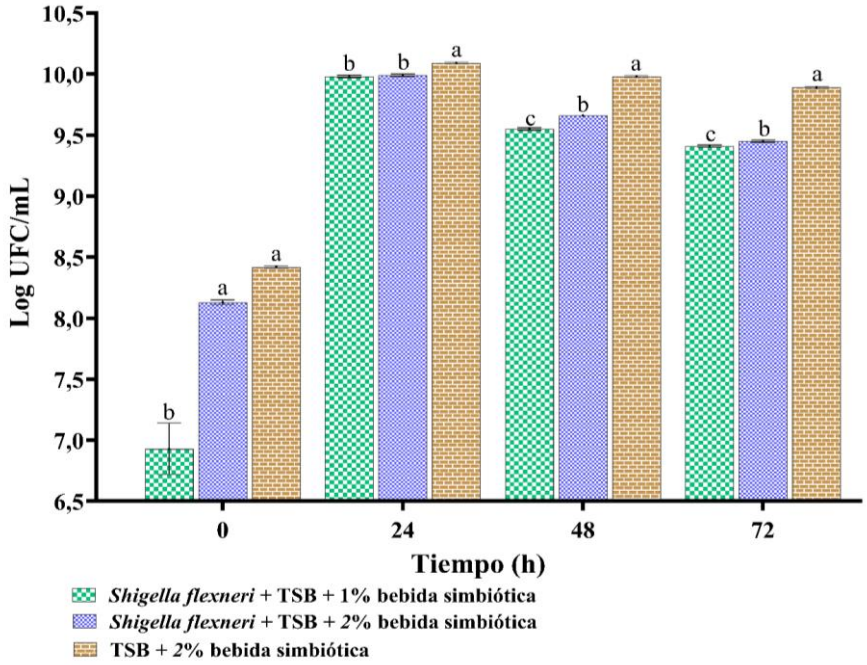


Figura 8. Recuento de *Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356™ entre tratamientos durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica con *Shigella flexneri*.

TSB: Caldo Tripticasa Soya
Letras diferentes indican diferencias significativas entre cada tratamiento de acuerdo con la prueba estadística Tukey ($p < 0,05$)

5.2.3 Evaluación del efecto antagónico *in vitro* de la bebida simbiótica a base de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja" frente *Listeria monocytogenes* ATCC® 7644™.

En la tabla 14 se muestran que, el tratamiento de *Listeria monocytogenes* + TSB inicia con un pH 6,68 ± 0,08 alcanzando un máximo de 7,34 ± 0,01 a las 24 horas para posteriormente disminuir hasta 6,25 ± 0,05 a las 72 horas. Los valores obtenidos para *Listeria monocytogenes* + TSB + 1% bebida simbiótica mostró un crecimiento progresivo hasta las 24 horas (6,84 ± 0,01) seguido de una disminución hasta alcanzar 4,82 ± 0,02 a las 72 horas. Para *Listeria monocytogenes* + TSB + 2% bebida simbiótica, presenta los valores inferiores a lo largo del tiempo de incubación iniciando con 6,53 ± 0,02 hasta alcanzar 4,62 ± 0,01 a las 72 horas. El tratamiento control (TSB + 2% bebida simbiótica), alcanza un pH de 5,73 ± 0,06 a las 12 horas para posteriormente disminuir gradualmente hasta las 72 horas 4,06 ± 0,05.

Tabla 14. Variación de pH para cada tratamiento durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica frente a *Listeria monocytogenes*

Tratamientos	Horas						
	0	12	24	36	48	60	72
Listeria monocytogenes + TSB	6,68 ± 0,08^{d}	6,79 ± 0,01^{c}	7,34 ± 0,01^{a}	6,98 ± 0,01^{b}	6,50 ± 0,01^{e}	6,37 ± 0,01^{f}	6,25 ± 0,05^{g}
Listeria monocytogenes + TSB + 1% bebida simbiótica	6,47 ± 0,06^{c}	6,74 ± 0,01^{b}	6,84 ± 0,01^{a}	6,76 ± 0,01^{b}	5,75 ± 0,01^{d}	5,45 ± 0,01^{e}	4,82 ± 0,02^{f}
Listeria monocytogenes + TSB + 2% bebida simbiótica	6,53 ± 0,06^{c}	6,70 ± 0,02^{b}	6,79 ± 0,01^{a}	6,57 ± 0,06^{c}	5,69 ± 0,01^{d}	5,30 ± 0,01^{e}	4,62 ± 0,01^{f}
TSB + 2% bebida simbiótica	6,53 ± 0,06^{a}	5,70 ± 0,06^{b}	4,80 ± 0,02^{c}	4,63 ± 0,06^{d}	4,4 ± 0,01^{e}	4,19 ± 0,01^{f}	4,06 ± 0,05^{g}

TSB: Caldo Tripticasa Soya
Promedio ± Desviación estándar (n=3)
Letras diferentes indican diferencias significativas en cada tratamiento de acuerdo con la prueba estadística Tukey ($p < 0,05$)

En la figura 9 se observa que, a las 48 horas, donde se aprecia un cambio significativo, en el tratamiento que involucra TSB + 2 % bebida simbiótica (control), experimenta una marcada reducción en comparación con los otros tres tratamientos que contienen al enteropatógeno *Listeria monocytogenes*, que mantienen niveles más elevados en este punto. A las 60 horas todos los tratamientos decrecen, siendo más notable en los tratamientos que contienen un % de bebida simbiótica y el tratamiento control, continúan exhibiendo los valores más bajos a las 72 horas.

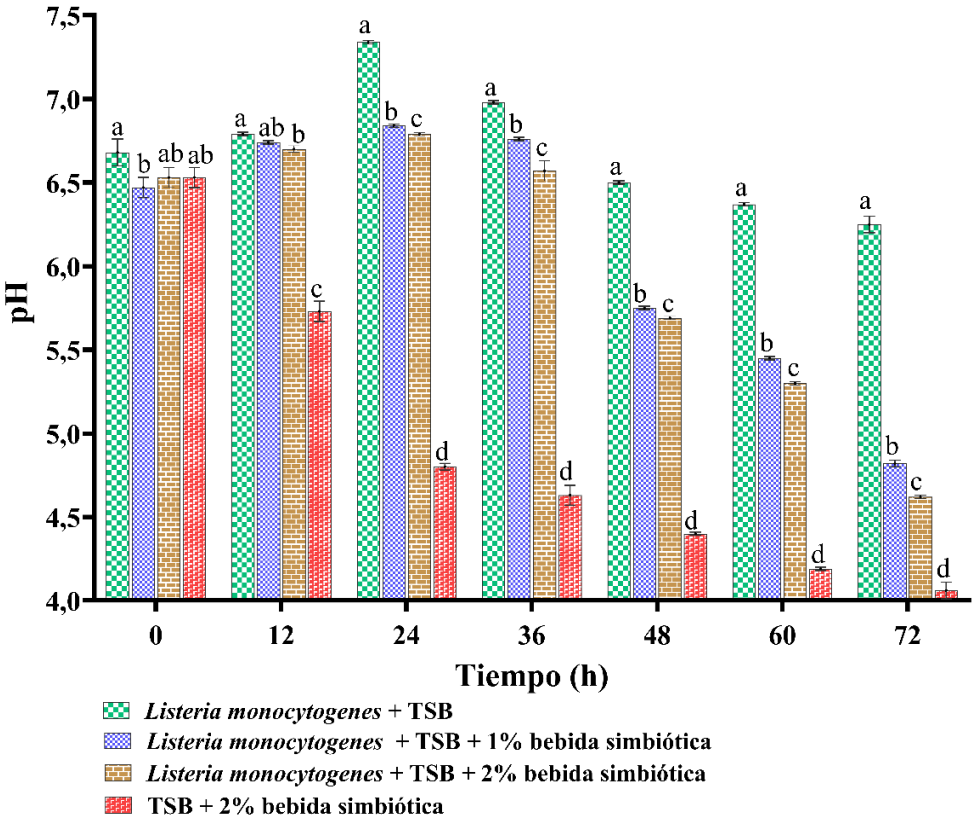


Figura 9. Variación de pH entre tratamientos durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica frente a *Listeria monocytogenes*

TSB: Caldo Tripticasa Soya

Letras diferentes indican diferencias significativas entre cada tratamiento de acuerdo con la prueba estadística Tukey ($p < 0,05$)

En la tabla 15 se evidencia que, para *Listeria monocytogenes* + TSB, los valores iniciales de 2,5 ± 0,7, experimentaron un aumento progresivo hasta alcanzar 8,42 ± 0,34 Log UFC/mL a las 24 horas, posteriormente se reduce hasta 4,73 ± 0,04 Log UFC/mL a las 72 horas. En el tratamiento de *Listeria monocytogenes* + TSB + 1% bebida simbiótica, inició con 2,00 ± 0,00 Log UFC/mL alcanzando su máximo crecimiento a las 24 horas (7,26 ± 0,06 Log UFC/mL), luego disminuye a 3,97 ± 0,03 Log UFC/mL a las 72 horas. En el tratamiento de *Listeria monocytogenes* + TSB + 2% bebida simbiótica presentó valores inferiores durante todo el tiempo de incubación alcanzando su máximo crecimiento a las 24 horas (6,52 ± 0,11 Log UFC/mL), luego disminuyó a 3,85 ± 0,21 Log UFC/mL a las 72 horas.

Tabla 15. Cantidad de *Listeria monocytogenes e*n cada tratamiento durante el enfrentamiento con la bebida simbiótica

Tratamientos	Log UFC/mL			
	0 h	24 h	48 h	72 h
L. monocytogenes + TSB	2,50 ± 0,71[d]	8,42 ± 0,34[a]	7,24 ± 0,08[b]	4,73 ± 0,04[c]
L. monocytogenes + TSB + 1% bebida simbiótica	2,00 ± 0,00[c]	7,26 ± 0,06[a]	4,00 ± 0,00[b]	3,97 ± 0,03[b]
L. monocytogenes + TSB + 2% bebida simbiótica	2,00 ± 0,00[c]	6,52 ± 0,11[a]	4,00 ± 0,00[b]	3,85 ± 0,21[b]

TSB: Caldo Tripticasa Soya
Promedio ± Desviación estándar (n=3)
Letras diferentes indican diferencias significativas en cada tratamiento de acuerdo con la prueba estadística Tukey ($p < 0,05$)

En la figura 10 se evidencia que, la *Listeria monocytogenes* a las 24 horas en todos los tratamientos alcanza su máximo crecimiento. A las 48 horas en todos los tratamientos experimenta un descenso en la cantidad, pero este descenso es más significativo en los tratamientos que contienen 1 y 2% de bebida simbiótica (4,00 ± 0,00 Log UFC/mL en ambos tratamientos). Finalmente, a las 72 horas se observa una continuación en el descenso de todos los tratamientos, pero el tratamiento que contiene *Listeria monocytogenes* + TSB + 2% bebida simbiótica experimenta una marcada reducción (3,85 ± 0,21 Log UFC/mL) en relación con el tratamiento sin bebida (4,73 ± 0,04 Log UFC/mL)

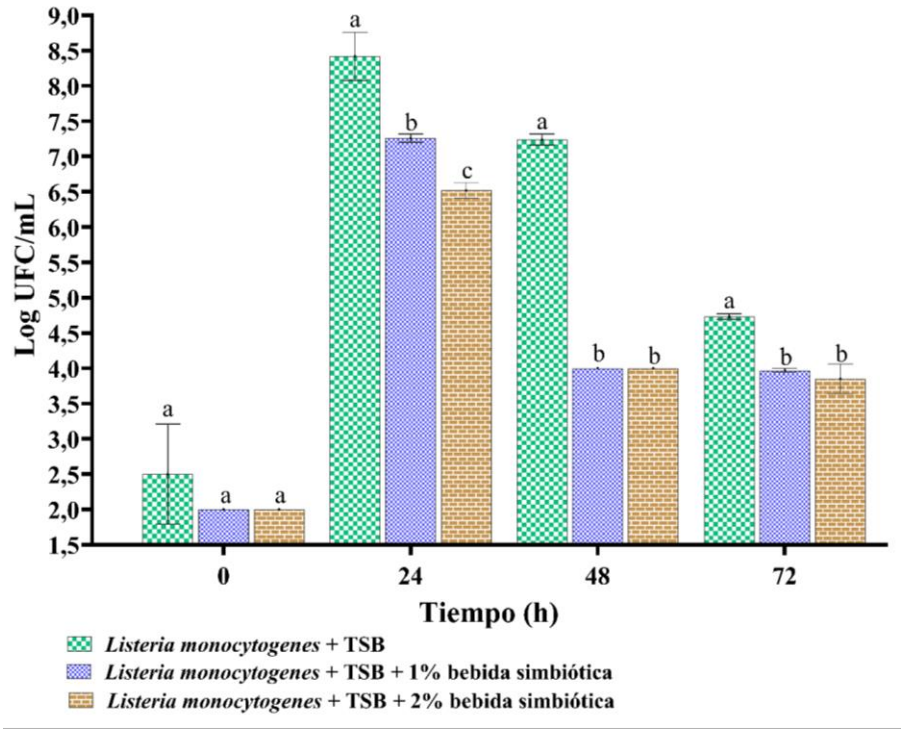


Figura 10. Cantidad de *Listeria monocytogenes* entre tratamientos durante el enfrentamiento con la bebida simbiótica

TSB: Caldo Tripticasa Soya

Letras diferentes indican diferencias significativas entre cada tratamiento de acuerdo con la prueba estadística Tukey ($p < 0,05$)

En la tabla 16 se muestra que, el recuento de *Lactobacillus rhamnosus* ATCC® 53103™ a las 0 horas, el tratamiento de *Listeria monocytogenes* + TSB + 1% de bebida simbiótica inicia con 7,50 ± 0,08 Log UFC/mL, alcanza 9,82 ± 0,01 Log UFC/mL a las 24 horas, luego disminuye 9,62 ± 0,04 Log UFC/mL a las 72 horas. Para el tratamiento *Listeria monocytogenes* + TSB + 2% bebida simbiótica inició con 7,82 ± 0,06 Log UFC/mL, tiene un crecimiento superior al tratamiento que contiene el enteropatógeno y alcanza su máximo crecimiento a las 24 horas 9,97 ± 0,01 Log UFC/mL luego disminuyó a 9,65 ± 0,01 Log UFC/mL a las 72 horas. El tratamiento control (TSB + 2% bebida simbiótica) presenta mayor crecimiento (10,12 ± 0,01 Log UFC/mL) para luego descender a 9,93 ± 0,01 Log UFC/mL a las 72 horas.

Tabla 16. Recuento de *Lactobacillus rhamnosus* ATCC® 53103™ para cada tratamiento durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica con *Listeria monocytogenes*

Tratamientos	Log UFC/mL			
	0 h	24 h	48 h	72 h
Listeria monocytogenes + TSB + 1% bebida simbiótica	7,50 ± 0,05^{c}	9,82 ± 0,01^{a}	9,79 ± 0,00^{a}	9,62 ± 0,01^{b}
Listeria monocytogenes + TSB + 2% bebida simbiótica	7,82 ± 0,01^{c}	9,97 ± 0,01^{a}	9,95 ± 0,01^{a}	9,65 ± 0,01^{b}
TSB + 2% bebida simbiótica	8,47 ± 0,01^{d}	10,12 ± 0,01^{a}	10,02 ± 0,01^{b}	9,93 ± 0,01^{c}

TSB: Caldo Tripticasa Soya
Promedio ± Desviación estándar (n=3)
Letras diferentes indican diferencias significativas en cada tratamiento de acuerdo con la prueba estadística Tukey ($p < 0,05$)

En la figura 11 se evidencia la evolución del crecimiento de *Lactobacillus rhamnosus* ATCC® 53103™. A las 24 horas todos los tratamientos alcanzan su máximo crecimiento, luego disminuyen gradualmente siendo el tratamiento TSB + 2% bebida simbiótica con los valores más altos (9,93 ± 0,01 Log UFC/mL) en contraste a *Listeria monocytogenes* + TSB + 1% bebida simbiótica (9,62 ± 0,01 Log UFC/mL)

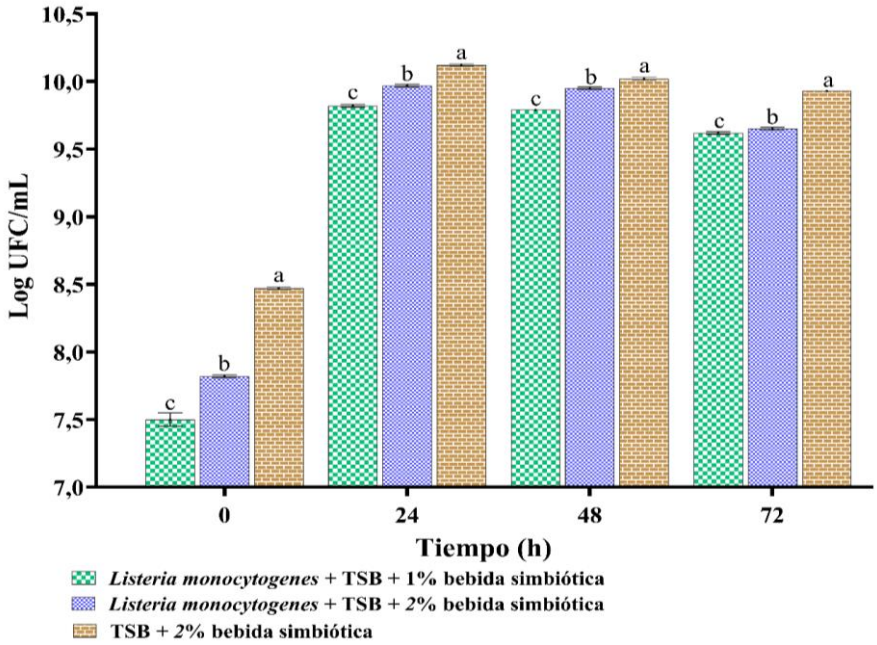


Figura 11. Recuento de *Lactobacillus rhamnosus* ATCC® 53103™ entre tratamientos durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica con *Listeria monocytogenes*

TSB: Caldo Tripticasa Soya

Promedio ± Desviación estándar (n=3)

Letras diferentes indican diferencias significativas entre cada tratamiento de acuerdo con la prueba estadística Tukey ($p < 0,05$)

En la tabla 17 se muestra que, el tratamiento de *Listeria monocytogenes* + TSB + 1% bebida simbiótica inició con 7,03 ± 0,11 Log UFC/mL alcanzando su máximo crecimiento a las 24 horas (9,74 ± 0,01 Log UFC/mL) para luego descender hasta 9,54 ± 0,01 Log UFC/mL a las 72 horas. En el tratamiento *Listeria monocytogenes* + TSB + 2% bebida simbiótica inicio con 7,77 ± 0,06 Log UFC/mL, alcanzando un máximo de 9,96 ± 0,01 Log UFC/mL a las 24 horas, luego desciende hasta 9,56 ± 0,01 Log UFC/mL a las 72 horas. El tratamiento control (TSB + 2% bebida simbiótica) presenta el mayor crecimiento (10,09 ± 0,01 Log UFC/mL) a las 24 horas, posteriormente desciende a 9,89 ± 0,01 Log UFC/mL a las 72 horas.

Tabla 17. Recuento de *Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356™ para cada tratamiento durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica con *Listeria monocytogenes.*

Tratamientos	**Log UFC/mL**			
	0 h	**24 h**	**48 h**	**72 h**
Listeria monocytogenes + TSB + 1% bebida simbiótica	7,03 ± 0,11^{c}	9,74 ± 0,01^{a}	9,70 ± 0,00^{a}	9,54 ± 0,01^{b}
Listeria monocytogenes + TSB + 2% bebida simbiótica	7,77 ± 0,06^{c}	9,96 ± 0,17^{a}	9,92 ± 0,01^{a}	9,56 ± 0,01^{b}
TSB + 2% bebida simbiótica	8,42 ± 0,01^{d}	10,09 ± 0,01^{a}	9,98 ± 0,01^{b}	9,89 ± 0,01^{c}

TSB: Caldo Tripticasa Soya
Promedio ± Desviación estándar (n=3)
Letras diferentes indican diferencias significativas en cada tratamiento de acuerdo con la prueba estadística Tukey ($p < 0,05$)

En la figura 12 se evidencia el crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356™ sobre la cantidad de *Listeria monocytogenes*. A las 0 horas el mayor crecimiento lo presenta el TSB + 2% bebida simbiótica (control) seguido de *Listeria monocytogenes* + TSB + 2% bebida simbiótica y finalmente *Listeria monocytogenes* + TSB + 1% bebida simbiótica, esta tendencia se mantiene a las 24 horas en el cual todos los tratamientos alcanzan su máximo crecimiento. A las 48 horas los tratamientos descienden. A las 72 horas continúan con la tendencia a descender, siendo el tratamiento control (9,89 ± 0,01 Log UFC/mL) el de mayor crecimiento en comparación al tratamiento *Listeria monocytogenes* + TSB + 1% bebida simbiótica (9,54 ± 0,01 Log UFC/mL)

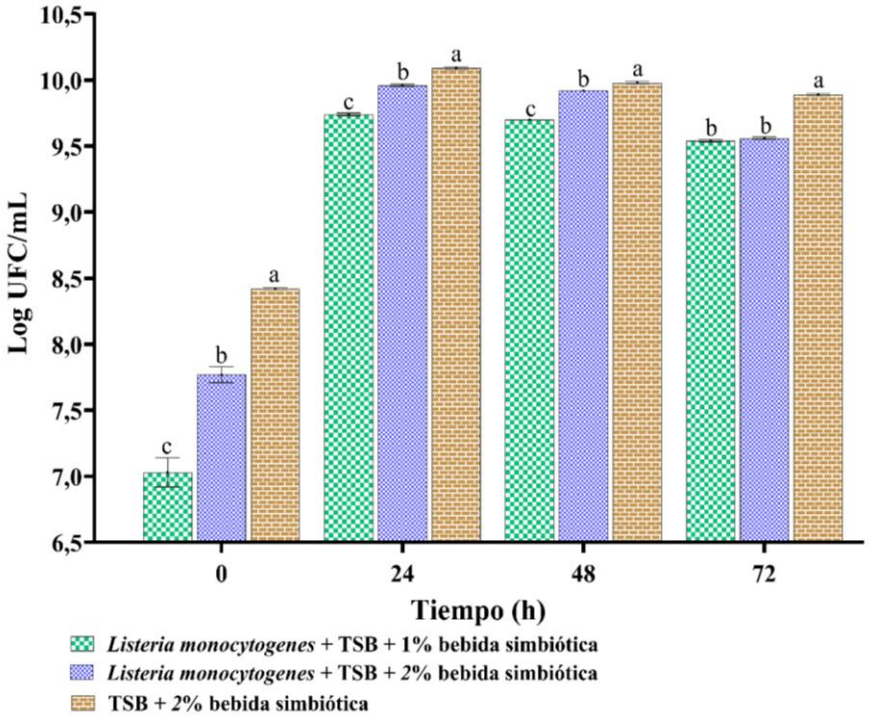


Figura 12. Recuento de *Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356™ entre tratamientos durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica con *Listeria monocytogenes*.

TSB: Caldo Tripticasa Soya

Letras diferentes indican diferencias significativas entre cada tratamiento de acuerdo con la prueba estadística Tukey ($p < 0,05$)

VI. DISCUSIÓN

La bebida simbiótica a base de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja", presentó un color rojo púrpura, un olor característico (frutado), un sabor ligeramente ácido y dulce, con una apariencia líquida con semillas del fruto distribuidas homogéneamente, esto debido a la fermentación de *Lactobacillus rhamnosus* ATCC® 53103™ y *Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356™ que disminuyen el pH, el color rojo- púrpura se atribuye a las betacianinas [42], además, la bebida es ligeramente dulce por el ajuste de solidos solubles (14,00 ± 0,00) previo a la fermentación. Es importante resaltar que las BAL mejoran el sabor y textura de los alimentos fermentados, contribuyendo en la conservación y seguridad microbiana[57].

Referente a los ensayos fisicoquímicos, la bebida simbiótica a base de pulpa de pitahaya roja presentó un pH ácido (3,57 ± 0,02) y % acidez titulable expresado en ácido láctico de 0,21 ± 0,01, estos datos son inferiores a lo reportado por Días et al[53] en una bebida simbiótica fermentada de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) (4,73 ± 0,02 y 0,24 ± 0,01 respectivamente), no obstante, presentó un valor similar en la cantidad de solidos solubles (14,00 ± 0,00). En otro estudio de una bebida simbiótica a base de nueces (*Bertholletia excelsa* H.B.K) de Brasil realizado por Da Cunha[58], en el día 28 de almacenamiento reportó un pH de 5,52 ± 0,01, % de ácido láctico de 0,19 ± 0,00 y sólidos solubles de 11,00 ± 0,00. Por otro lado, en una bebida fermentada de Kanji durante la fermentación y el posterior periodo de almacenamiento hubo una disminución del pH de 6,15 a 3,24 con un aumento significativo de la acidez total de 0,02% al 0,74%[57]. En un jugo de pitahaya roja presentó un pH de 3,78 ± 0,04 y sólidos solubles de 11,00 ± 0,00[59]. La disminución del pH se presenta por la producción de ácidos orgánicos por parte de las bacterias probióticas durante la fermentación[40]. La variación en el pH de las bebidas fermentadas puede atribuirse a varios factores, incluyendo la disponibilidad de azúcares, la elección de las cepas durante la fermentación de las bebidas, la temperatura y duración del proceso de fermentación, cada uno de estos factores puede ejercer influencia en la cantidad de ácido láctico generada, y, en consecuencia, en el valor de pH final de la bebida[57].

La bebida simbiótica a base de pulpa de "pitahaya roja", presentó un contenido de fibra dietética total (FDT) de 4,74 ± 0,06 g/100 mL, siendo la fibra insoluble (3,70 ± 0,04 g/100 mL) más abundante que la fibra soluble (1,04 ± 0,02 g/100 mL). La FDT encontrada en

la bebida fue mayor a lo reportado por Dias[53] en una bebida simbiótica de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) fermentada (0,35 ±0,02 g/100 mL), asimismo, a lo reportado por Da Cunha[58] en una bebida simbiótica de nueces (*Bertholletia excelsa* H.B.K) de Brasil (2,42 ± 0,10 g/100 g)[58]. La Legislación brasileña (1999)[53] recomienda consumir 1,5 g/ porción de fibra por ración del producto, sin embargo; Pansai et al (2023)[45] sugiere consumir 4 g/día de oligosacáridos de pitahaya para aumentar los niveles de IgA (10,95%) y 8 g/día para promover el crecimiento de *Bifidobacterium* spp. (8,41%) y *Faecalibacterium* (1,99%). Por tanto, la diferencia en la cantidad de FDT se debe al porcentaje de inclusión de la materia prima en la elaboración de la bebida y la naturaleza de este. En base al Consenso Latinoamericano sobre Estreñimiento Crónico, la cantidad de fibra dietética recomendada en el caso de adultos sanos sugiere una ingesta de fibra que varía entre 25 y 30 gramos al día[60]. En el caso de la bebida simbiótica a base de pulpa de pitahaya en 200 mL aporta 9,48 g representando alrededor del 38% de la cantidad recomendada.

El recuento de BAL en la bebida simbiótica fue en promedio de 10,17 ± 0,04 Log UFC/mL para *Lactobacillus rhamnosus* y 10,04 ± 0,01 Log UFC/mL para *Lactobacillus acidophilus.* Segura[61] reportó un crecimiento de *L. rhamnosus* 9,9 Log UFC/mL en una bebida funcional simbiótica a base de agua de coco. En otro estudio de una bebida de leche fermentada, Pinheiro[62] reportó un promedio menor de 6,8 Log UFC/mL para el recuento de *L. acidophilus*, *L. bulgaricus* y *B. lactis*. Lamba[57] reportó un recuento máximo de BAL de 7,81 Log UFC/mL para el kanji de remolacha. Asimismo, Días[53] en una bebida fermentada a base de suero de leche y almacenada a 6°C en el día 21 reportó de *Lactobacillus acidophilus* 9,4 Log UFC/mL. La diferencia del crecimiento de las BAL se debe al uso de diferentes especies en los estudios, la cantidad de inoculación antes de la fermentación, las condiciones de cultivo, tiempo de fermentación y la cantidad de sustrato disponible para el crecimiento de las BAL[57]. Es importante destacar que, para ser considerados alimentos probióticos al momento de ser ingeridos deben de contener como mínimo 6 Log de UFC por g/mL del producto[59].

Se evaluó el efecto de la bebida simbiótica sobre el pH en los tratamientos con enteropatógenos en un periodo de 72 horas. En el caso de la *Salmonella* Enteritidis se constató que el tratamiento que contiene *Salmonella* Enteritidis + TSB + 2% bebida simbiótica se ve más afectado, debido a que, inició con 6,40 ± 0,03 hasta disminuir a un valor de 4,98 ± 0,02, en contraste del tratamiento *Salmonella* Enteritidis + TSB que inició

con un pH 6,90 ± 0,10 y bajó a 5,60 ± 0,01 (Tabla 6). El comportamiento fue similar para los tratamientos con *Shigella flexneri*, disminuyó el pH a lo largo de las horas, pero el tratamiento más afectado es el que contiene 2% bebida simbiótica en su composición (6,40 ± 0,02 hasta alcanzar 4,50 ± 0,17), el tratamiento que solo contenía el enteropatógeno alcanza su máximo valor a las 48 horas, pero disminuyó hasta 6,40 ± 0,01 (Tabla 10). Adicionalmente, el tratamiento *Listeria monocytogenes* + TSB alcanzó un máximo de pH de 7,34 ± 0,01 a las 24 horas para posteriormente disminuir hasta 4,82 ± 0,02 a las 72 horas, siendo este valor mayor al que obtuvo el tratamiento con 2% bebida simbiótica (4,62 ± 0,01). Sin embargo, se debe tener en cuenta que la muestra control (TSB + 2% bebida simbiótica) a lo largo de las evaluaciones fue la que obtuvo el menor valor, finalizando con un pH de 4,06 ± 0,05 (Tabla 14). Esto ocurre debido a que, cuando el pH es inferior de 5, el crecimiento de microorganismos no deseados disminuye[15] y esta disminución se da por la producción de ácidos orgánicos por parte de las BAL y su exposición a temperaturas de 37°C que favorecen su crecimiento, viéndose afectadas las bacterias enteropatógenas que necesitan un medio alcalino para poder desarrollarse. Muhialdin et al.[63], observaron que transcurridas 48 h de incubación con *L. plantarum,* el pH del jugo fresco de pitaya disminuye significativamente de 5,61 a 3,49. Asimismo, en un estudio realizado por Dejene[64] sobre la actividad antagónica de las BAL mostró un mejor resultado en pH ácido de 2 a 5, en un sobrenadante libre, por lo cual, sugiere que puede usarse para inhibir el crecimiento de bacterias enteropatógenas. Ruiz et al.[65] reportaron que *L. rhamnosus GG* y *L. rhamnosus* INIA P344, a las 24 horas presentaron una caída de pH de 7,12 a 3,84.

El efecto de la bebida simbiótica sobre la cantidad de *Salmonella* Enteritidis se observó que el tratamiento con *Salmonella* Enteritidis + TSB + 2% de bebida simbiótica a las 48 horas tiene su mayor crecimiento en el recuento de *Salmonella* Enteritidis (6,88 ± 0,03 Log UFC/mL), seguido de una reducción a las 72 horas (6,28 ± 0,39 Log UFC/mL) (Tabla 7) en el medio sin bebida a las 48 horas alcanza 8,04 ± 0,35 Log UFC/mL para luego descender a las 72 horas (7,17 ± 0,29 Log UFC/mL). No obstante, el recuento de las BAL tiene un comportamiento similar durante las 72 horas, siendo el tratamiento *Salmonella* Enteritidis + TSB + 2% de bebida simbiótica exhibe resultados similares a los de la muestra control (Tabla 8 y 9). Esto sugiere que la bebida simbiótica al 2% estimula el crecimiento de las BAL inhibiendo el crecimiento de *Salmonella* Enteritidis. Estudios reportan que *Lactobacillus rhamnosus GG* producen microcine, que es resistente al calor

y proteasas, además, sus 7 péptidos poseen actividad antimicrobiana contra gram-negativos (E. *coli* EAEC 042 y *Salmonella typhi)* y *Staphylococcus aureus* (gram-positivo), asimismo, sus proteínas 1 y 2 de LGG inhiben especies de *Salmonella* o la *Escherichia coli* uropatógena[36]. Hutt y colaboradores reportaron un mayor halo de inhibición de *L. acidophilus* La5 en *Salmonella enterica* ssp. Enterica ATCC 13076 y *Sh. sonnei* ATCC 25931 en condiciones anaeróbicas a diferencia de LGG tuvo un mejor crecimiento en condiciones microaerobico, esto se debe, a la producción de metabolitos como ácido acético, láctico y succínico, este último fue mayor en LGG que en La5, es importante recalcar que el ácido láctico fue el más abundante (105,0 ± 43,0)[46]. Das et al[9]. Reportó una destrucción eficaz de *S.* Enteritidis (89,6%) al 11% de CFCS (cultivo libre de células) después de 4h en la cepa *Lactobacillus plantarum* KSBT 56 aislada de dahi chenna. Asimismo, Rodriguez[7] , registró que la especie de *Lactobacillus plantarum* aisladas de chicha de molle presentó mayor capacidad antagónica frente a microorganismos patógenos como *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

El efecto de la bebida simbiótica en la cantidad de *Shiguella flexneri* se observó que el tratamiento con *Shiguella flexneri* + TSB + 2% de bebida simbiótica a las 24 horas tiene su mayor crecimiento en el recuento de *Shiguella flexneri* (6,44 ± 0,06 Log UFC/mL), seguido de una reducción significativa a las 72 horas (3,78 ± 0,00 Log UFC/mL), en el medio sin bebida a las 48 horas alcanza 7,76 ± 0,02 Log UFC/mL para luego descender a las 72 horas (7,68 ± 0,02 Log UFC/mL) (Tabla 11). En cuanto a los recuentos de *Lactobacillus rhamnosus* y *Lactobacillus acidophilus*, se observó su máximo crecimiento a las 24 horas alcanzando 10,00 ± 0,01 y 9,99 ± 0,01 Log UFC/mL respectivamente (Tabla 12 y 13). El LGG, se usa para suprimir a *E.coli* pielonefrítica, así también, para los tratamiento contra *Shigella* [46]. Usaga et al. Reportó un incremento de *Lactobacillus acidophilus* LA-05 y *Bifidobacterium lactis* BB-12 en la pulpa de pitahaya roja y su capacidad de sobrevivir a un ambiente gastrointestinal *in vitro.* Aumentando la biodisponibilidad de ciertos compuestos fenólicos (catequina, galato de epigalocatequina y procianidina B2) y la capacidad antioxidante en la pulpa de pitahaya fermentada[59]. Aryantini et al[8]. Reportó que la cepa de *Lactobacillus rhamnosus* FSMM15 aislada de la leche fermentada de yegua inhibió los crecimientos de *Salmonella* Typhimurium LT-2, *Shigella sonnei*, *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli* O157. Muhialdin reportó una inhibición del crecimiento bacteriano con la cepa *L. plantarum,* tuvo mejor actividad

contra *E. coli, S. aureus, S. Typhimurium* y *P. aeruginosa.* El ácido láctico fue mayor en el jugo de pitahaya fermentado (400 veces más), además, el ácido málico fue utilizado en su totalidad, al mismo tiempo que disminuyeron la fructosa y glucosa a las 48 horas de la lactofermentación[63].

El efecto de la bebida simbiótica en la cantidad de *Listeria monocytogenes* se observó que el tratamiento con *Listeria monocytogenes*+ TSB + 2% de bebida simbiótica a las 24 horas tiene su mayor crecimiento en el recuento de *Listeria monocytogenes* (6,52 ± 0,11 Log UFC/mL), seguido de una reducción significativa a las 72 horas (3,85 ± 0,00 Log UFC/mL) el medio sin bebida a las 24 horas alcanza 8,42 ± 0,34 Log UFC/mL para luego descender a las 72 horas (4,73 ± 0,04 Log UFC/mL) (Tabla 15). En cuanto a los recuentos de *Lactobacillus rhamnosus* y *Lactobacillus acidophilus*, se observó su máximo crecimiento a las 24 horas alcanzando 10,12 ± 0,01 y 10,09 ± 0,01 Log UFC/mL respectivamente (Tabla 16 y 17). *Lactobacillus acidophilus* produce bacteriocinas de clase II, como la acidocina B o CH5 generado por las cepas M46 y CH5 respectivamente, ambas cepas inhiben el crecimiento de microorganismo enteropatógenos (*L. monocytogenes, C. sporegenes, Arthrobacter* spp., *Bacillus* spp. *y Corynebacterium* spp*)*[38], siendo su capacidad limitada contra bacterias grampositivas[48]. Deraz et al. Detectaron en el *Lactobacillus acidophilus* DSM 20079 una bacteriocina de bajo peso molecular que es estable al calor, pH y con una actividad inhibidora de espectro limitado[66]. La capacidad listericida se asocia a la producción de compuestos tales como, peróxidos, ácidos orgánicos, bacteriocinas o la interacción de estos componentes[48]. Ahn y Choi[16], cuando se utilizó AOS (arabino-oligosacáridos) en *L. plantarum* JSA22 inhibió a 4 cepas patógenas alimentarias (*Listeria monocytogenes* LMG 13305, *Escherichia coli* DSM 30083, *Salmonella entérica* IFO 3313, *Bacillus cereus* ATCC 27348).

VII. CONCLUSIONES

- La bebida simbiótica a base de pulpa *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja", presentó un color rojo púrpura, olor fermentado y dulce, sabor ligeramente ácido y dulce; apariencia líquida con semillas del fruto distribuidas homogéneamente. El pH fue de 3,57 ± 0,02; °Brix de 14,00 ± 0,00; acidez titulable (ácido láctico) de 0,21 ± 0,01%. El contenido de fibra dietética total fue de 3,70 ± 0,04 de (g/100 mL). El contenido de probióticos (*Lactobacillus rhamnosus* ATCC® 53103™ y *Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356™) fue de 10,17 ± 0,04 Log UFC/mL y 10,04 ± 0,01 Log UFC/mL respectivamente.
- El efecto antagónico *in vitro* de la bebida simbiótica a base de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja" frente a *Salmonella* Enteritidis ATCC® 13076™, presentó mayor efecto antagónico en el tratamiento con 2% de la bebida simbiótica, a las 72 horas presentó un pH 4,98 ± 0,02 y recuento del enteropatógeno 6,28 ± 0,39 Log UFC/mL; en el medio sin bebida el pH fue de 6,40 ± 0,02 y el recuento de *Salmonella* Enteritidis de 7,17 ± 0,29 Log UFC/mL.
- El efecto antagónico *in vitro* de la bebida simbiótica a base de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja" frente a *Shigella flexneri* ATCC® 9199™, presentó una mayor efectividad en el tratamiento que tuvo un 2% de la bebida, a las 72 horas presentó un pH 4,50 ± 0,17; recuento del enteropatógeno 3,78 ± 0,00 Log UFC/mL; en el medio sin bebida el pH fue de 6,40 ± 0,01 y el recuento de *Shigella flexneri* de 7,68 ± 0,02 Log UFC/mL.
- El efecto antagónico *in vitro* de la bebida simbiótica a base de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja" frente a *Listeria monocytogenes* ATCC® 7644™, presentó una mayor efectividad en el tratamiento que tuvo un 2% de la bebida, las 72 horas presentó un pH 4,62 ± 0,01; recuento del enteropatógeno 3,85 ± 0,21 Log UFC/mL; en el medio sin bebida el pH fue de 6,25 ± 0,05 y el recuento de *Listeria monocytogenes* de 4,73 ± 0,04 Log UFC/mL.

La bebida simbiótica presentó mayor efecto antagónico frente a *Shigella flexneri*, ATCC® 9199™ seguida por *Listeria monocytogenes* ATCC® 7644™ y el menor efecto fue frente a *Salmonella* Enteritidis ATCC® 13076™.

VIII. RECOMENDACIONES

- Se recomienda continuar con los estudios del efecto antagónico *in vitro* frente a otras bacterias enteropatógenas.
- Se recomienda continuar con los estudios del efecto antagónico en modelos animales de la bebida simbiótica a base de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja".
- Se sugiere evaluar el efecto antagónico *in vitro* en mayores concentraciones de la bebida simbiótica a base de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja".

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ministerio de Salud. Enfermedades Transmitidas por Alimentos [Internet]. Boletin Epidemiologico del Perú. 2017 [citado el 9 de junio de 2023]. Disponible en: https://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/boletines/2017/07.pdf
2. Organización Mundial de la Salud. Resistencia a los antibióticos [Internet]. 2020 [citado el 9 de junio de 2023]. Disponible en: https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibióticos
3. Mukherjee S, Anderson C, Mosci R, Newton D, Lephart P, Salimnia H, et al. Increasing Frequencies of Antibiotic Resistant Non-typhoidal *Salmonella* Infections in Michigan and Risk Factors for Disease. Front Med. 2019;6:250. doi: 10.3389/fmed.2019.00250.
4. Kuan C, Rukayadi Y, Ahmad S, Wan Mohamed Radzi C, Kuan C, Yeo S, et al. Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* Enteritidis isolated from vegetable farms and retail markets in Malaysia. Int Food Res J. 2017;24(4):1831–9.
5. Organización Mundial de la Salud. Informe de la OMS señala que los niños menores de 5 años representan casi un tercio de las muertes por enfermedades de transmisión alimentaria [Internet]. 2015 [citado el 6 de abril de 2023]. Disponible en: https://www.who.int/es/news/item/03-12-2015-who-s-first-ever-global-estimates-of-foodborne-diseases-find-children-under-5-account-for-almost-one-third-of-deaths
6. Organización Mundial de la Salud. La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos [Internet]. 2017 [citado el 22 de marzo de 2023]. Disponible en: https://www.who.int/es/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed
7. Rodríguez J, García-Godos P. Capacidad probiótica de bacterias lácticas aisladas de chicha de molle. Rev la Soc Química del Perú. 2017;83(4):391–402.
8. Aryantini NPD, Yamasaki E, Kurazono H, Sujaya IN, Urashima T, Fukuda K. *In vitro* safety assessments and antimicrobial activities of *Lactobacillus rhamnosus* strains isolated from a fermented mare's milk. Anim Sci J. 2017;88(3):517–25. doi: 10.1111/asj.12668
9. Das J, Mishra D, Ray P, Tripathy P, Beuria TK, Singh N, et al. *In vitro* evaluation

of anti-infective activity of a *Lactobacillus plantarum* strain against *Salmonella* enterica serovar Enteritidis. Gut Pathog. 2013;5(1):1–11. doi: 10.1186/1757-4749-5-11

10. Guzman E, Montes P, Monge E. Probióticos, prebióticos y simbióticos en el síndrome de intestino irritable. Acta Méd Per. 2012;29(2):92-98.
11. Amiri S, Rezaei R, Sowti M, Rezazadeh M, Alizadeh M. Characterization of antimicrobial peptides produced by *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium lactis* BB-12 and their inhibitory effect against foodborne pathogens. LWT. 2022;153:2–9. doi:10.1016/j.lwt.2021.112449.
12. Son S, Jeon HL, Jeon E, Lee N, Park Y, Kang D, et al. Potential probiotic *Lactobacillus plantarum* Ln4 from kimchi: Evaluation of β-galactosidase and antioxidant activities. LWT - Food Science and Technology. 2017;85:181–6. doi: doi:10.1016/j.lwt.2017.07.018.
13. De Vasconcelos V, Hofer E, Vallim D, De Castro R. Occurrence and antimicrobial resistance patterns of *Listeria monocytogenes* isolated from vegetables. Brazilian J Microbiol. 2016;47(2):438–43. doi:10.1016/j.bjm.2015.11.033.
14. Eom J, Song J, Choi H. Protective Effects of a Novel Probiotic Strain of *Lactobacillus plantarum* JSA22 from Traditional Fermented Soybean Food Against Infection by *Salmonella* enterica Serovar Typhimurium. J Microbiol Biotechnol. 2015;25(4):479–91. doi:10.4014/jmb.1501.01006
15. Anandharaj M, Sivasankari B, Santhanakaruppu R, Manimaran M, Rani RP, Sivakumar S. Determining the probiotic potential of cholesterol-reducing *Lactobacillus* and *Weissella* strains isolated from gherkins (fermented cucumber) and south Indian fermented koozh. Res Microbiol. 2015;166(5):428–39. doi:10.1016/j.resmic.2015.03.002
16. Ahn Y, Choi H. Potential probiotic properties of exopolysaccharide producing lactic acid bacteria isolated from fermented soybean product. J Korean Soc Food Sci Nutr. 2014;43(5):749–55.
17. Madureira A, Pintado M, Gomes A, Malcata F. Incorporation of probiotic bacteria in whey cheese: decreasing the risk of microbial contamination. J Food Prot. 2011;74(7):1194–9. doi:10.3746/jkfn.2014.43.5.749
18. Vargas E. Las enfermedades transmitidas por alimentos: un grave problema de salud pública. Boletín Epidemiológico del Perú. 2019;28(08):191–2.
19. Falcón M, Torres M. Boletín Epidemiológico [Internet]. Lima: Dirección Regional

de Salud, Gobierno Regional de Lima; 2024 [citado el 15 de febrero de 2024]. Disponible en: https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/6014443/5328503-boletin-epidemiologico-hh-enero-2024.pdf

20. Agencia Chilena para la Calidad e Inocuidad Alimentaria. *Salmonella* enterica no serovar Typhi [Internet]. Ministerio de Agricultura. 2017 [citado el 12 de julio de 2023]. Disponible en: https://www.achipia.gob.cl/wp-content/uploads/2018/03/Ficha-Peligro-05-Salmonella-no-typhi-v01.pdf
21. Brenes K, Arias M. Determinación de la capacidad de sobrevivencia de *Salmonella* enterica en muestras de mantequilla de maní distribuidas de manera comercial en San José, Costa Rica. Rev Cienc Tecnol. 2016;26: 21-25.
22. Castañeda R, Pereira A, Del Pilar A, Mendoza M. Estimación de la prevalencia de *Salmonella* spp. en pechugas de pollo para consumo humano provenientes de cuatro localidades de Bogotá-Colombia. Infectio. 2018;23(2019):27–32. doi: 10.22354/in.v23i1.752
23. Parra V, Rondón C, García C. *Salmonelosis* invasiva en un hospital de Lima, Perú. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2019;3. doi:10.17843/rpmesp.2019.363.4330
24. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2021–2022. EFSA [Internet]. el 1 de febrero de 2024 [citado el 16 de junio de 2024];22(2). Disponible en: https://multimedia.efsa.europa.eu/dataviz-2022/index.htm
25. Cabrera C, Purizaca R, León A, Celis J. Sepsis por *Shigella flexneri*. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2005;22(2): 145-147.
26. Organización Mundial de la Salud. Guidelines for the control of shigellosis, including epidemics due to *Shigella dysenteriae* type 1 [Internet]. 2005 [citado el 6 de julio de 2023]. Disponible en: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/43252/924159330X.pdf?sequence=1&isAllowed=y
27. Centros de Control y Prevención de Enfermedades. Drug- resistant *Shigella* [Internet]. Department of Health and Human Services. 2017 [citado el 8 de septiembre de 2023]. Disponible en: https://www.cdc.gov/antimicrobial-resistance/media/pdfs/shigella-508.pdf
28. Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo. *Listeria monocytogenes* [Internet]. Ministerio de Trabajo y Economía Social. [citado el 8 de julio de 2023]. Disponible en: https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/bacterias/listeria-

monocytogenes#bibliografia0

29. Rodríguez J. Panorama de la infección por *Listeria monocytogenes*. Rev Chil Infectol. 2018;35(2018):649–57. doi:10.4067/S0716-10182018000600649
30. Şanlıbaba P, Tezel B, Çakmak G. Prevalence and antibiotic resistance of *Listeria monocytogenes* isolated from ready-to-eat foods in Turkey. J Food Qual. 2018. doi: 10.1155/2018/7693782
31. Organización Mundial de la Salud. Resistencia a los antimicrobianos [Internet]. 2021 [citado el 5 de septiembre de 2023]. Disponible en: https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance
32. Mariño A, Núñez M, Barreto J. Microbiota, probióticos, prebióticos y simbióticos. [Internet]. Medigraphic. 2016 [citado el 9 de junio de 2023]; Disponible en: https://www.medigraphic.com/pdfs/actamedica/acm-2016/acm161g.pdf
33. Ojetti V, Bruno G, Ainora ME, Gigante G, Rizzo G, Roccarina D, et al., Gastroenterol Res Pract. 2012;2012:740381. doi: 10.1155/2012/740381.
34. Hammes W, Hertel C. *Lactobacillus*. Ger Inst Food Technol. 2015;55:1–76.
35. León K, Urbina H, Sanchez E, Abraham A, Teresa M. Productos y efectos. Arch Venez Puer Ped. 2015;78(4): 129-134.
36. Capurso L. Thirty Years of *Lactobacillus rhamnosus* GG: A Review. J Clin Gastroenterol. 2019;53 Suppl 1:S1–41. doi: 10.1097/MCG.0000000000001170
37. Anjum N, Maqsood S, Masud T, Ahmad A, Sohail A, Momin A. *Lactobacillus acidophilus*: characterization of the species and application in food production. Crit Rev Food Sci Nutr. 2014;54(9):1241–51. doi: 10.1080/10408398.2011.621169
38. Bull M, Plummer S, Marchesi J, Mahenthiralingam E. The life history of *Lactobacillus acidophilus* as a probiotic: a tale of revisionary taxonomy, misidentification and commercial success. FEMS Microbiol Lett. 2013;349(2):77–87. doi: 10.1111/1574-6968.12293.
39. Flesch AG amarr. T, Poziomyck AK irjne., Damin DC arvalh. The therapeutic use of symbiotics. ABCD Arq Bras Cir Dig (São Paulo). 2014;27(3):206–9. doi: 10.1590/S0102-67202014000300012
40. González S, Bermúdez G, Ochoa L, Rutiaga O, Gallegos J. Synbiotics: a technological approach in food applications. J Food Sci Technol. 2021;58(3):811–24. doi: 10.1007/s13197-020-04532-0.
41. Guarner F, Ellen M, Szajewka H, Cohen H, Eliakim R, Herrera C, et al. Probióticos y prebióticos. Directices mundiales de la organización mundial de

gastroenterología. [Internet] 2023 [citado el 14 de junio de 2024]. Disponible en: https://www.worldgastroenterology.org/guidelines/probiotics-and-prebiotics/probiotics-and-prebiotics-spanish

42. Verona A, Urcia J, Paucar L. Pitahaya (*Hylocereus* spp.): Cultivo, características fisicoquímicas, composición nutricional y compuestos bioactivos. 2020;11(3):439–53. doi:10.17268/sci.agropecu.2020.03.16
43. Rudas P. Elaboración de una bebida simbiótica a base de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort . Ex Lem .) Britton & Rose "pitahaya roja" [Tesis de pregrado]. Lima, Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2023.
44. Wichienchot S, Jatupornpipat M, Rastall R. Oligosaccharides of pitaya (dragon fruit) flesh and their prebiotic properties. Food Chem. 2010;120(3):850–7. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.11.026
45. Pansai N, Detarun P, Chinnaworn A, Sangsupawanich P, Wichienchot S. Effects of dragon fruit oligosaccharides on immunity, gut microbiome, and their metabolites in healthy adults – A randomized double-blind placebo controlled study. Food Res Int. 2023;167:2–14. doi: 10.1016/j.foodres.2023.112657
46. Hütt P, Shchepetova J, Lõivukene K, Kullisaar T, Mikelsaar M. Antagonistic activity of probiotic lactobacilli and bifidobacteria against entero- and uropathogens. J Appl Microbiol. 2006;100(6):1324–32. doi:10.1111/j.1365-2672.2006.02857.x
47. Real Academia Española. *in vitro* [Internet]. RAE. 2022 [citado el 13 de julio de 2023]. Disponible en: https://dle.rae.es/*in vitro*
48. Darbandi A, Asadi A, Mahdizade M, Ohadi E, Talebi M, Halaj M, et al. Bacteriocins: Properties and potential use as antimicrobials. J Clin Lab Anal. 2022;36(1):e24093. doi: 10.1002/jcla.24093.
49. Hernandez A, Rodríguez D, Romagosa S, Madelay V, Duarte D. Evaluación de la calidad sensorial y la aceptabilidad de diferentes productos alimenticios elaborados con adición de jugo de sábila (*Aloe vera*) y su relación con la dosis empleada. Tecnol Química. 2021;41(3):480-498.
50. Asociación de Comunidades Analíticas. Official Methods of Analysis, 21st ed. Gaithersburg, MD: AOAC International; 2019.
51. Asociación de Comunidades Analíticas. Official Method 991.43 Total, Soluble, and Insoluble Dietary Fibre in Foods [Internet]. 1995 [citado el 28 de julio de 2023]. Disponible en:

https://acnfp.food.gov.uk/sites/default/files/mnt/drupal_data/sources/files/multimedia/pdfs/annexg.pdf

52. Drider D, Ladero V, Iacumin L, Fernández L, Rodríguez J, Martínez R, et al. Characterization of *Lactobacillus rhamnosus* MP01 and *Lactobacillus plantarum* MP02 and Assessment of Their Potential for the Prevention of Gastrointestinal Infections in an Experimental Canine Model. 2019;24(10):1117. doi: 10.3389/fmicb.2019.01117.

53. Dias M, Salgado S, Guerra N, Livera A, Andrade S, Ximenes G. Phisicochemical, sensory, and microbiological evaluation and development of symbiotic fermented drink. Food Sci Technol. 2013;33(4):805–11. doi:10.1590/S0101-20612013000400030

54. García J, Gil J, Botero S, Valencia F. Control de crecimiento de *Listeria monocytogenes* en co-cultivo con *Lactobacillus plantarum*. Rev Colomb Biotecno. 2018;2:68–77. doi: 10.15446/rev.colomb.biote.v20n2.77064

55. Shi S, Qi Z, Sheng T, Tu J, Shao Y, Qi K. Antagonistic trait of *Lactobacillus reuteri* S5 against *Salmonella* Enteritidis and assessment of its potential probiotic characteristics. Microb Pathog. 2019;137:103773. doi: https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103773

56. Iulietto M, Sechi P, Cella E, Grispoldi L, Ceccarelli M, Al Ani A, et al. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by a formulation of selected dairy starter cultures and probiotics in an *in vitro* model. Ital J Anim Sci. 2018;17(4):845–50. doi: 10.1080/1828051X.2018.1450099

57. Lamba J, Goomer S, Saxena SK. Study the lactic acid bacteria content in traditional fermented Indian drink: Kanji. Int J Gastron Food Sci. 2019;16:1–4. doi: https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2019.100143

58. Da Cunha P, De Oliveira L, Gouvêa L, De Alcantara M, Rosenthal A, Da Rocha E. Symbiotic drink based on Brazil nuts (*Bertholletia excelsa* H.B.K): production, characterization, probiotic viability and sensory acceptance. Food Technol. 2021;51(2):2–10. doi:10.1590/0103-8478cr20200361

59. Usaga J, Barahona D, Arroyo L, Esquivel P. Probiotics survival and betalains stability in purple pitaya (*Hylocereus sp*.) juice. NFS J. 2022;27:47–53. doi: 10.1016/j.nfs.2022.05.001

60. Schmulson M, Francisconi C, Olden K, Aguilar L, Bustos L, Cohen H, et al. Consenso Latinoamericano de Estreñimiento Crónico. Gastroenterol Hepatol.

2008;31(2):59–74. doi: 10.1157/13116072

61. Segura O, Lazcano M, Kammar A, Vera O, Aguilar P, Ramírez J, et al. Use of coconut water (*Cocus nucifera* L) for the development of a symbiotic functional drink. Heliyon. 2020;6(3):e03653. doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e03653.
62. Pinheiro R, Perego P, Nogueira M, Converti A. Effect of inulin as prebiotic and synbiotic interactions between probiotics to improve fermented milk firmness. J Food Eng. 2011;107(1):36–40. doi:10.1016/j.jfoodeng.2011.06.005
63. Muhialdin B, Kadum H, Zarei M, Meor Hussin A. Effects of metabolite changes during lacto-fermentation on the biological activity and consumer acceptability for dragon fruit juice. LWT. 2020;121:108992. doi:10.1016/j.lwt.2019.108992
64. Dejene F, Regasa B, Tadesse D. *In vitro* Antagonistic Effect of Lactic Acid Bacteria Isolated from Fermented Beverage and Finfish on Pathogenic and Foodborne Pathogenic Microorganism in Ethiopia. Int J Microbiol. 2021;2021:1–10. doi: 10.1155/2021/5370556
65. Ruiz A, Peirotén Á, Langa S, Rodríguez E, Curiel J, Arqués J, et al. Fermented soy beverages as vehicle of probiotic lactobacilli strains and source of bioactive isoflavones: A potential double functional effect. Heliyon. 2023;9(4):e14991. doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e14991
66. Deraz S, Karlsson E, Hedström M, Andersson M, Mattiasson B. Purification and characterisation of acidocin D20079, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus* DSM 20079. J Biotechnol. 2005;117(4):343–54. doi: 10.1016/j.jbiotec.2005.02.005.

X. ANEXOS (*)

Anexos 10.1 Operacionalización de variables

VARIABLE(S)	TIPO DE VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADOR	UNIDAD DE MEDIDA
Bebida simbiótica.	**Independiente**	Producto que contiene tanto probióticos como prebióticos, mejora la supervivencia de bacterias promotoras de la salud a nivel del colón[16].	Bebida elaborada a base de pulpa de pitahaya roja que contiene probióticos y prebióticos que se utilizarán en concentraciones 1 y 2%.	Grados Brix	-	g azúcares/ 100 mL
				pH	-	-
				%Acidez	-	g/100mL
				Fibra dietética	-	g%
				Recuento de probióticos	Mayor a 1.5 x 10^8 UFC/mL	UFC/mL
Efecto antagónico de las bacterias enteropatógenas transmitidas por alimentos	**Dependiente**	Capacidad antagónica de la bebida simbiótica sobre bacterias enteropatógenas transmitidas por alimentos[16].	Capacidad de la bebida simbiótica a base de pulpa de Pitahaya roja para antagonizar *in vitro* a las bacterias enteropatógenas transmitidas por alimentos.	Efecto antagónico frente a *S.* Entérica.	Recuento de bacterias enteropatógenas.	UFC/mL
				Efecto antagónico frente a *Shigella flexneri*.	Recuento de probióticos.	UFC/mL
				Efecto antagónico frente a *Listeria monocytogenes*.	Reducción de pH	---------- -

Anexos 10.2. Evaluación organoléptica, fisicoquímica, recuento de probióticos y cuantificación de fibra dietética de la bebida simbiótica de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja".

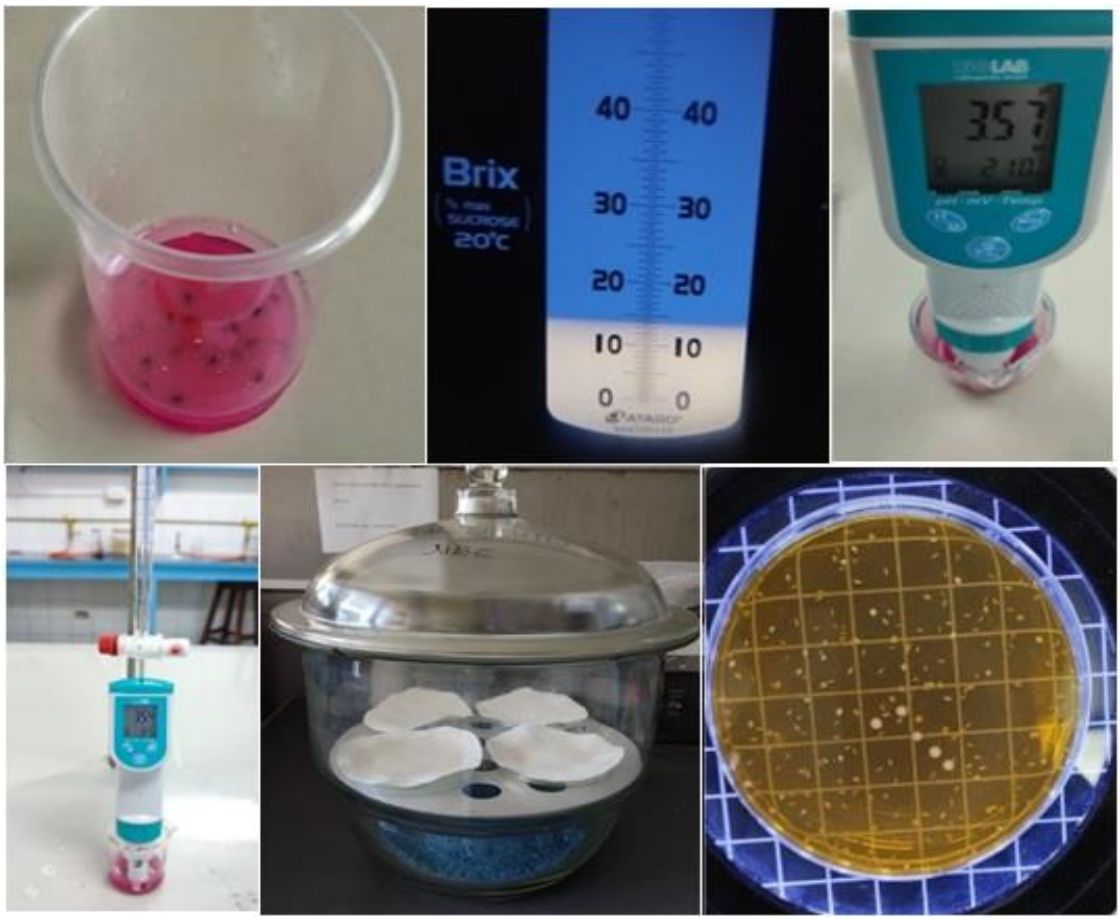


Figura 13. Evaluación de las características organolépticas, fisicoquímicas recuento de probióticos y cuantificación de fibra dietética en la bebida simbiótica de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja".

Anexos 10.3 Evaluación *in vitro* del efecto antagónico de la bebida simbiótica de pulpa de *Hylocereus monacanthus* (Hort. Ex Lem.) Britton & Rose "pitahaya roja" sobre cepas patógenas



Figura 14. Activación de las cepas enteropatógenas



.
Figura 15. Inoculación de las cepas patógenas en caldo TSB- **0 horas**



Figura 16. Imagen del ensayo de enfrentamiento de la bebida simbiótica con *Salmonella* Enteritidis ATCC® 13076™.



Figura 17. Imagen del ensayo de enfrentamiento de la bebida simbiótica con *Shigella flexneri* ATCC® 9199™.



Figura 18. Imagen del ensayo de enfrentamiento de la bebida simbiótica con *Listeria monocytogenes* ATCC® 7644™.

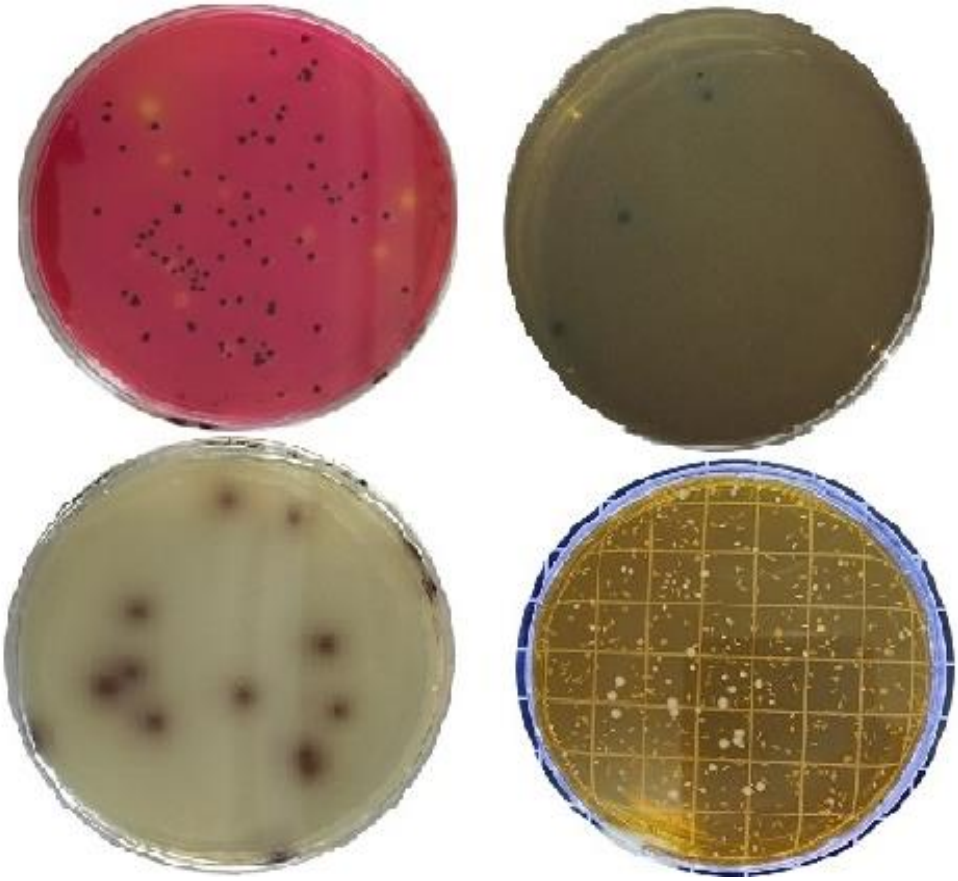


Figura 19. Imagen de recuento de *Salmonella* Enteritidis ATCC® 13076™, *Shigella flexneri* ATCC® 9199™, *Listeria monocytogenes* ATCC® 7644™ y probióticos (*Lactobacillus rhamnosus* ATCC® 53103™ y *Lactobacillus acidophilus* ATCC® 4356™) en agar XDL, Hektoen, Oxford y MRS respectivamente

Anexos 10.4 Resumen ANOVA de pH, recuento de bacterias enteropatógenos y probióticos durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica

Tabla ANOVA para pH- 0H- SALMONELLA por TRATAMIENTOS

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*GI*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
Entre grupos	0.4025	3	0.134167	21.88	0.0003
Intra grupos	0.0490667	8	0.00613333		
Total (Corr.)	0.451567	11			

Figura 20. Resumen ANOVA para pH a las 0 horas durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica frente a *Salmonella* Enteritidis

Tabla ANOVA para pH- 12H- SALMONELLA por TRATAMIENTOS

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*GI*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
Entre grupos	2.5073	3	0.835767	426.77	0.0000
Intra grupos	0.0156667	8	0.00195833		
Total (Corr.)	2.52297	11			

Figura 21. Resumen ANOVA para pH a las 12 horas durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica frente a *Salmonella* Enteritidis

Tabla ANOVA para pH- 24H- SALMONELLA por TRATAMIENTOS

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*GI*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
Entre grupos	9.7449	3	3.2483	1170.56	0.0000
Intra grupos	0.0222	8	0.002775		
Total (Corr.)	9.7671	11			

Figura 22. Resumen ANOVA para pH a las 24 horas durante el enfrentamiento de la bebida simbiótica frente a *Salmonella* Enteritidis

Tabla ANOVA para PTG - T0- SALMONELLA por TRATAMIENTO

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*GI*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
Entre grupos	0.00653333	2	0.00326667	0.91	0.4918
Intra grupos	0.0108	3	0.0036		
Total (Corr.)	0.0173333	5			

Figura 23. Resumen ANOVA para el recuento *Salmonella* Enteritidis a las 0 horas.

Tabla ANOVA para PTG - T1- SALMONELLA por TRATAMIENTO

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*GI*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
Entre grupos	0.00373333	2	0.00186667	0.05	0.9536
Intra grupos	0.116	3	0.0386667		
Total (Corr.)	0.119733	5			

Figura 24. Resumen ANOVA para el recuento *Salmonella* Enteritidis a las 24 horas.

Tabla ANOVA para PTG - T2- SALMONELLA por TRATAMIENTO

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*GI*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
Entre grupos	1.35923	2	0.679617	5.81	0.0929
Intra grupos	0.3507	3	0.1169		
Total (Corr.)	1.70993	5			

Figura 25. Resumen ANOVA para el recuento *Salmonella* Enteritidis a las 48 horas.

Tabla ANOVA para PTG - T3- SALMONELLA por TRATAMIENTO

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.8179	2	0.40895	5.09	0.1086
Intra grupos	0.24105	3	0.08035		
Total (Corr.)	1.05895	5			

Figura 26. Resumen ANOVA para el recuento *Salmonella* Enteritidis a las 72 horas.

Tabla ANOVA para PTG - T0- LISTERIA por TRATAMIENTO

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.975033	2	0.487517	541.69	0.0001
Intra grupos	0.0027	3	0.0009		
Total (Corr.)	0.977733	5			

Figura 27. Resumen ANOVA para el recuento *L. rhamnosus* frente a *Listeria monocytogenes* a las 0 horas.

Tabla ANOVA para PTG - T1- SHIGELLA por TRATAMIENTO

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.0121333	2	0.00606667	121.33	0.0013
Intra grupos	0.00015	3	0.00005		
Total (Corr.)	0.0122833	5			

Figura 28. Resumen ANOVA para el recuento *L. acidophilus* frente a *Shigella flexneri* a las 24 horas.

Tabla ANOVA para PTG - T1- SHIGELLA por TRATAMIENTO

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.0121333	2	0.00606667	121.33	0.0013
Intra grupos	0.00015	3	0.00005		
Total (Corr.)	0.0122833	5			

Figura 29. Resumen ANOVA para el recuento *L. acidophilus* frente a *Shigella flexneri* a las 24 horas.

Tabla ANOVA para PTG - T2- SHIGELLA por TRATAMIENTO

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.192533	2	0.0962667	1925.33	0.0000
Intra grupos	0.00015	3	0.00005		
Total (Corr.)	0.192683	5			

Figura 30. Resumen ANOVA para el recuento *L. acidophilus* frente a *Shigella flexneri* a las 48 horas.