



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA AGROINDUSTRIA

**“ELABORACIÓN DE BEBIDAS PROBIÓTICAS DE ZANAHORIA,
UTILIZANDO BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS AISLADAS DEL
BOSQUE PRIMARIO-PUNGALÁ”**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA AGROINDUSTRIAL

AUTORA:

ODALIS TAMARA VINUEZA VILLAGOMEZ

Riobamba – Ecuador

2024



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA AGROINDUSTRIA

**“ELABORACIÓN DE BEBIDAS PROBIÓTICAS DE ZANAHORIA,
UTILIZANDO BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS AISLADAS DEL
BOSQUE PRIMARIO-PUNGALÁ”**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA AGROINDUSTRIAL

AUTORA: ODALIS TAMARA VINUEZA VILLAGOMEZ

DIRECTOR: Ing. CÉSAR IVÁN FLORES MANCHENO, PHD.

Riobamba – Ecuador

2024

© 2024, Odalis Tamara Vinueza Villagomez

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, Odalis Tamara Vinueza Villagomez, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Integración Curricular; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 17 de enero de 2024






Odalis Tamara Vinueza Villagomez

060508599-2

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA AGROINDUSTRIA

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; tipo: Trabajo Experimental, “**ELABORACIÓN DE BEBIDAS PROBIÓTICAS DE ZANAHORIA, UTILIZANDO BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS AISLADAS DEL BOSQUE PRIMARIO-PUNGALÁ**”, realizado por la señorita: **ODALIS TAMARA VINUEZA VILLAGOMEZ**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Ing. Tatiana Elizabeth Sánchez Herrera, MsC PRESIDENTE DEL TRIBUNAL		2024-01-17
Ing. César Iván Flores Mancheno, PhD. DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR		2024-01-17
Ing. Iván Patricio Salgado Tello, MsC. ASESOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR		2024-01-17

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado en primer lugar a Dios por haberme dado la vida y la oportunidad de cumplir mis sueños, a mi mamá Irma Villagomez por su amor incondicional y por todo su apoyo, a mi papá Carlos Vinueza por su fortaleza y por sus sabios consejos, a mis hermanas Daniela Vinueza y Lesly Vinueza, por ser mi fuente de inspiración para cada día ser mejor, a mis abuelitos Ana Zabala y Carlos Villagomez por siempre haber confiado en mí y a mi hermana de corazón Irene por hacer de este proceso momentos inolvidables. Este triunfo es dedicado a ustedes, familia y amigos que quisieron verme brillar.

Odalis

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por haberme dado la oportunidad de seguir mis sueños, a mi familia por haber sido mi pilar fundamental a lo largo de toda mi carrera y en mi vida y a mis amigos por su cariño y apoyo. Además, a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias Pecuarias, principalmente a la Escuela de Ingeniería Agroindustrial, a sus docentes por todo el conocimiento brindado, especialmente a mi director Ing. César Iván Flores Mancheno PhD., y a mi asesor Ing. Iván Patricio Salgado Tello MsC., por haberme guiado y apoyado con el desarrollo de este trabajo y al grupo de investigación SEALPRA conjuntamente con la empresa ARSAICO Cía. Ltda., por confiar en mí y permitirme formar parte de su proyecto.

Odalis

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xii
RESUMEN.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
INTRODUCCIÓN.....	1

CAPÍTULO I

1. DIAGNÓSTICO DEL PROBLEMA.....	3
1.1 Planteamiento del problema.....	3
1.2 Justificación.....	3
1.3 Objetivos.....	4
1.3.1 <i>Objetivo general</i>	4
1.3.2 <i>Objetivos específicos</i>	4

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO.....	5
2.1 Bacterias ácido-lácticas (BAL).....	5
2.1.1 <i>Condiciones de desarrollo de Bacterias ácido-lácticas: Lactobacillus</i>	5
2.1.2 <i>Clasificación de las Bacterias ácido-lácticas</i>	5
2.2 <i>Lactobacillus</i>	5
2.2.1 <i>Clasificación científica de Lactobacillus</i>	5
2.2.1.1 <i>Lactobacillus plantarum</i>	6
2.2.1.2 <i>Lactobacillus curvatus</i>	6
2.2.1.3 <i>Lactobacillus Bulgaricus</i>	6
2.3 Fermentación láctica.....	6
2.4 Bacterias ácido-lácticas aisladas del Bosque Primario-Pungalá.....	7
2.5 Probióticos.....	7

2.6	Cinética de crecimiento de las bacterias ácido-lácticas	7
2.6.1	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	7
2.6.2	<i>Lactobacillus plantarum</i>.....	8
2.6.3	<i>Lactobacillus curvatus</i>.....	8
2.7	Aspectos fisicoquímicos de bacterias ácido-lácticas en bebidas probióticas	9
2.7.1	Ácido láctico y pH.....	10
2.7.2	Proteína y grasa	11
2.8	Aspectos antimicrobianos de bacterias ácido-lácticas en alimentos.....	11
2.8.1	<i>Requisitos microbiológicos en leches fermentadas (INEN 2395, 2011, págs. 1-5)..</i>	12
2.9	Aspectos sensoriales de productos alimenticios con bacterias ácido-lácticas.....	12

CAPÍTULO III

3.	MARCO METODOLÓGICO	14
3.1	Localización y duración del experimento	14
3.2	Duración del experimento.....	14
3.3	Unidades experimentales.....	14
3.4	Materiales, Equipos e Insumos	14
3.4.1	<i>Materiales</i>.....	14
3.4.2	<i>Equipos</i>.....	15
3.4.3	<i>Insumos</i>	16
3.5	Tratamientos y Diseño Experimental	17
3.6	Mediciones experimentales	18
3.6.1	<i>Cinética de crecimiento de las bacterias ácido-lácticas</i>.....	18
3.6.1.1	<i>Análisis microbiológico</i>.....	18
3.6.2	<i>Aspectos fisicoquímicos, microbiológicos y sensoriales de la bebida probiótica</i>.....	18
3.6.2.1	<i>Análisis fisicoquímicos</i>	18
3.6.2.2	<i>Análisis microbiológico</i>.....	18
3.6.2.3	<i>Análisis sensorial</i>.....	18
3.6.3	<i>Costos de producción</i>.....	19
3.7	Análisis Estadísticos y Pruebas de significancia	19
3.8	Procedimiento experimental	19
3.8.1	<i>Formulación de la bebida probiótica de zanahoria</i>.....	19

3.8.2	<i>Elaboración de la bebida probiótica de zanahoria</i>	19
3.8.2.1	<i>Recepción de la materia prima</i>	20
3.8.2.2	<i>Limpieza y desinfección (Materiales y equipos)</i>	20
3.8.2.3	<i>Selección</i>	20
3.8.2.4	<i>Lavado y desinfección</i>	20
3.8.2.5	<i>Pelado</i>	20
3.8.2.6	<i>Despulpado mecánico</i>	20
3.8.2.7	<i>Filtrado</i>	20
3.8.2.8	<i>Mezclado y homogenización</i>	20
3.8.2.9	<i>Pasteurización</i>	21
3.8.2.10	<i>Enfriado</i>	21
3.8.2.11	<i>Adición de estabilizante</i>	21
3.8.2.12	<i>Adición de conservante</i>	21
3.8.2.13	<i>Inoculación e incubación de bacterias ácido-lácticas</i>	21
3.8.2.14	<i>Envasado</i>	21
3.8.2.15	<i>Almacenamiento</i>	21
3.9	<i>Metodología de Evaluación</i>	21
3.9.1	<i>Análisis microbiológico</i>	21
3.9.1.1	<i>Coliformes totales</i>	21
3.9.1.2	<i>Escherichia coli</i>	22
3.9.1.3	<i>Mohos y levaduras</i>	22
3.9.1.4	<i>Bacterias ácido-lácticas</i>	22
3.9.2	<i>Análisis fisicoquímicos</i>	22
3.9.2.1	<i>Proteína</i>	22
3.9.2.2	<i>Grasa</i>	22
3.9.2.3	<i>Acidez (expresada como contenido de ácido láctico)</i>	22
3.9.2.4	<i>pH</i>	23
3.9.3	<i>Análisis sensorial</i>	23
3.9.4	<i>Costos de producción</i>	23

CAPÍTULO IV

4.	<i>ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS</i>	24
4.1	<i>Cinética de crecimiento de tres especies de <i>Lactobacillus</i></i>	24
4.2	<i>Caracterización fisicoquímica</i>	25

4.2.1	<i>pH</i>	25
4.2.2	<i>Acidez (% de ácido láctico)</i>	26
4.2.3	<i>Proteína (%)</i>	26
4.2.4	<i>Grasa (%)</i>	27
4.3	Carga microbiológica	27
4.4	Valoración sensorial	28
4.5	Valoración económica	29

CAPÍTULO V

5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	31
5.1	Conclusiones	31
5.2	Recomendaciones	32

GLOSARIO

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2-1: Clasificación de <i>Lactobacillus</i>	5
Tabla 2-2: Especificaciones de las leches fermentadas.....	9
Tabla 2-3: Requisitos de composición de leches fermentadas.....	10
Tabla 2-4: Requisitos microbiológicos: leche fermentada sin tratamiento térmico luego de la fermentación.....	12
Tabla 3-1: Esquema del experimento.....	17
Tabla 3-2: Esquema ADEVA	17
Tabla 3-3: Formulación de la bebida probiótica de zanahoria con diferentes especies de <i>Lactobacillus</i>	19
Tabla 4-1: Cinética de crecimiento de tres especies de <i>Lactobacillus</i> en diferentes tiempos....	24
Tabla 4-2: Características fisicoquímicas de las bebidas probióticas de zanahoria elaboradas con diferentes especies de <i>Lactobacillus</i>	25
Tabla 4-3: Carga microbiológica de las bebidas probióticas de zanahoria elaboradas con diferentes especies de <i>Lactobacillus</i>	27
Tabla 4-4: Características sensoriales de las bebidas probióticas de zanahoria elaboradas con diferentes especies de <i>Lactobacillus</i>	28
Tabla 4-5: Valoración económica de las bebidas probióticas de zanahoria elaboradas con diferentes especies de <i>Lactobacillus</i>	30

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: DIAGRAMA DE ELABORACIÓN DE LA BEBIDA PROBIÓTICA

ANEXO B: VALOR NUTRICIONAL DE LA ZANAHORIA POR CADA 100G

ANEXO C: CINÉTICA DE CRECIMIENTO DE *L. CURVATUS* UFC/ML

ANEXO D: CINÉTICA DE CRECIMIENTO DE *L. BULGARICUS* YAU-1432 UFC/ML

ANEXO E: CINÉTICA DE CRECIMIENTO DE *L. PLANTARUM* UFC/ML

ANEXO F: VALORACIÓN DEL PH DE LAS BEBIDAS PROBIÓTICAS DE ZANAHORIA ELABORADAS CON DIFERENTES ESPECIES DE *LACTOBACILLUS*

ANEXO G: ALORACIÓN DE LA ACIDEZ (% DE ÁCIDO LÁCTICO) DE LAS BEBIDAS PROBIÓTICAS DE ZANAHORIA ELABORADAS CON DIFERENTES ESPECIES DE *LACTOBACILLUS*

ANEXO H: VALORACIÓN DEL % DE PROTEÍNA DE LAS BEBIDAS PROBIÓTICAS DE ZANAHORIA ELABORADAS CON DIFERENTES ESPECIES DE *LACTOBACILLUS*

ANEXO I: VALORACIÓN DE LA GRASA EXPRESADA EN % DE LAS BEBIDAS PROBIÓTICAS DE ZANAHORIA ELABORADAS CON DIFERENTES ESPECIES DE *LACTOBACILLUS*

ANEXO J: NIVEL DE AGRADO DE OLOR DE LAS BEBIDAS PROBIÓTICAS DE ZANAHORIA ELABORADAS CON DIFERENTES ESPECIES DE *LACTOBACILLUS*

ANEXO K: NIVEL DE AGRADO DE COLOR DE LAS BEBIDAS PROBIÓTICAS DE ZANAHORIA ELABORADAS CON DIFERENTES ESPECIES DE *LACTOBACILLUS*

ANEXO L: NIVEL DE AGRADO DE COLOR DE LAS BEBIDAS PROBIÓTICAS DE ZANAHORIA ELABORADAS CON DIFERENTES ESPECIES DE *LACTOBACILLUS*

ANEXO M: REPORTE DE RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE ZANAHORIA

ANEXO N: REPORTE DE RESULTADOS DE CINETICA DE CRECIMIENTO DE *LACTOBACILLUS*

- ANEXO Ñ:** REPORTE DE RESULTADOS FISICOQUÍMICOS DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE ZANAHORIA
- ANEXO O:** FICHA DE LA PRUEBA DE AFECTIVIDAD EN ESCALA HEDÓNICA DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE ZANAHORIA
- ANEXO P:** RESULTADOS REGISTRADOS DE LA VALORACIÓN SENSORIAL DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE ZANAHORIA
- ANEXO Q:** ANÁLISIS DE VARIANZA DEL OLOR, COLOR Y SABOR DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE ZANAHORIA
- ANEXO R:** ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA CINÉTICA DE CRECIMIENTO DE TRES ESPECIES DE *LACTOBACILLUS*
- ANEXO S:** ANÁLISIS DE VARIANZA DE LAS CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE ZANAHORIA
- ANEXO T:** ANÁLISIS DE VARIANZA DE LAS CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE ZANAHORIA
- ANEXO U:** ELABORACIÓN DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE ZANAHORIA
- ANEXO V:** ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE ZANAHORIA
- ANEXO W:** ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE ZANAHORIA
- ANEXO X:** ANÁLISIS DE LA CINÉTICA DE CRECIMIENTO DE *LACTOBACILLUS*
- ANEXO Y:** ANÁLISIS SENSORIAL DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE ZANAHORIA

RESUMEN

Esta investigación buscó darles aplicación a microorganismos de interés biotecnológico, por lo que el objetivo fue elaborar bebidas probióticas de zanahoria, utilizando bacterias ácido-lácticas aisladas del Bosque Primario-Pungalá (*L. plantarum*, *L. curvatus*) frente a una comercial (*L. bulgaricus* YAU-1432). Se aplicó un Diseño Completamente al Azar bajo un modelo lineal analizando 3 tratamientos con 5 repeticiones. Se determinó la cinética de crecimiento de cada especie mediante un recuento microbiano. Para los análisis fisicoquímicos y microbiológicos se utilizó ADEVA, prueba de Tukey mediante una estadística descriptiva respectivamente, para análisis sensoriales se aplicó una prueba de Kruskal-Wallis y de aceptación con escala hedónica a 150 panelistas no entrenados, para el análisis económico se utilizó el indicador Beneficio/Costo. La cinética de crecimiento registró que el *L. curvatus* tuvo mayor crecimiento con $5,96 \times 10^7$ UFC/ml. En análisis fisicoquímicos las bebidas registraron diferencias estadísticas en cuanto a pH, acidez y proteína, sin embargo, estos valores se relacionan con los requisitos establecidos por la norma INEN 2395 y la Norma Oficial Mexicana 051-SCFI/SSA1. Microbiológicamente las bebidas presentaron la mayor población de bacterias ácido-lácticas (BAL) en el tratamiento con *L. plantarum*, con $6,73 \times 10^7$ UFC/ml, el mismo tratamiento fue sensorialmente más aceptado por los catadores, determinándose muy buena en olor y excelente en color y sabor. El mejor Beneficio/costo fue de 1,47 utilizando las BAL aisladas, obteniendo por cada dólar invertido una ganancia de 0,47 centavos. En conclusión, se determinaron diferencias estadísticas por efecto de la especie de *Lactobacillus* utilizado en las bebidas, siendo microbiológica y sensorialmente mejor la bebida elaborada con *L. plantarum*, en aspectos fisicoquímicos mejores las elaboradas con *L. curvatus* y *L. bulgaricus* YAU-1432 y económicamente mejores las elaboradas con *L. plantarum* y *curvatus*.

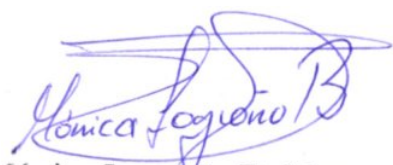
Palabras clave: <PROBIÓTICO>, <FERMENTACIÓN LÁCTICA>, <CINÉTICA DE CRECIMIENTO>, <LACTOBACILOS (*Lactobacillus*)>, <*Lactobacillus bulgaricus*>, <*Lactobacillus curvatus*>, <*Lactobacillus plantarum*>, <ZANAHORIA (*Daucus carota sativus*)>.



ABSTRACT

This research aimed to apply microorganisms of biotechnological interest by developing probiotic carrot beverages using lactic acid bacteria isolated from Primary Forest-Pungalá (*L. plantarum*, *L. curvatus*) compared to a commercial strain (*L. bulgaricus* YAU-1432). The methodology followed a Completely Randomized Design under a linear model, analyzing three treatments with five replications each, with microbial count essential for determining the growth kinetics of each species. Statistical analysis, descriptive in nature, used ANOVA and Tukey's test for physicochemical and microbiological analyses. Kruskal-Wallis's test served as a tool for sensory analyses, while the hedonic scale evaluated acceptance levels among 150 untrained panelists, and the Cost-Benefit ratio facilitated economic analysis. Growth kinetics revealed that *L. curvatus* exhibited higher growth with 5.96×10^7 CFU/ml. Physicochemical analyses indicated significant differences in pH, acidity, and protein content among beverages, aligning with standards set by INEN 2395 and the Official Mexican Standard 051-SCFI/SSA1. Microbiologically, beverages exhibited the highest population of lactic acid bacteria (LAB) in the treatment with *L. plantarum*, reaching 6.73×10^7 CFU/ml, which was also preferred by tasters, characterized as very good in aroma and excellent in color and flavor. The best Cost-Benefit ratio was 1.47 utilizing isolated LAB strains, yielding a profit of 0.47 cents per dollar invested. Finally, significant statistical differences are noticeable on the *Lactobacillus* species used in the beverages. The beverages with the best results in their microbiological and sensorial properties were those made with *L. plantarum*. In addition, the beverages with the best results in their physicochemical properties were those based on *L. curvatus* and *L. bulgaricus* YAU-1432, and economically, the beverages made with *L. plantarum* and *curvatus* showed the best results.

Keywords: <PROBIOTIC>, <LACTIC FERMENTATION>, <GROWTH KINETICS>, <LACTOBACILLI (*Lactobacillus*)>, <*Lactobacillus bulgaricus*>, <*Lactobacillus curvatus*>, <*Lactobacillus plantarum*>, <CARROT (*Daucus carota sativus*)>.



Lic. Mónica Logroño B. Mgs.

060274953-3

INTRODUCCIÓN

Las bacterias ácido-lácticas (BAL) son utilizadas como cultivos probióticos en fermentaciones alimenticias, están conformadas por un grupo heterogéneo de bacterias Gram positivas, en forma de cocos o cocobacilos, son mesófilas, inmóviles, anaerobias, no patógenas, de catalasa negativa y no forman esporas, (Zárate, 2020, págs. 19-21). Son bacterias funcionales caracterizadas por ser fermentadoras debido a que producen ácido láctico como resultado de su metabolismo, jugando un papel muy importante en la conservación de productos debido a que inhiben la presencia de bacterias contaminantes y patógenas, gracias a su producción de ácidos orgánicos y bacteriocinas, disminuyen la susceptibilidad a la sinéresis que es la separación del suero y mejoran las características sensoriales de los productos lácteos fermentados como textura, sabor y estabilidad del producto final, (Thamires et al., 2021, pág. 3). Estos microorganismos son considerados GRAS (Generalmente Considerado como Seguro) (Guel et al, 2018, pág. 6).

Ciertas bacterias ácido-lácticas son consideradas probióticas, debido a que benefician a la salud del consumidor, conservan el equilibrio en el microbiota intestinal, inhiben el crecimiento de microorganismos patógenos, ayudan en la digestión etc., (Corrales & Arias, 2020, pág. 55). Dentro de esta investigación se realizará una bebida probiótica, dándole uso a tres especies de bacterias ácido-lácticas del género *Lactobacillus*. Las bebidas probióticas son el resultado del proceso de una fermentación de ingredientes en líquidos como agua, leche o vinagre, que dentro de su composición contienen cultivos probióticos (IFEMA, 2022, pág.3). Su consumo es benéfico puesto que mejora significativamente la calidad de la salud, ayudando a restablecer el equilibrio natural de las bacterias intestinales y reduciendo los síntomas de trastornos mentales como estrés, ansiedad y depresión, etc. (Sudha, 2021, págs. 1-7)

Los probióticos son microorganismos vivos, que más allá del efecto nutricional brindan un efecto benéfico sobre la salud del consumidor, al ser digeridos en cantidades suficientes de acuerdo con la Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 2395, 2011, págs. 1-5), estas cantidades varían de entre $>10^6$ - 10^8 UFC/ml de células viables dentro de un producto probiótico, (Sánchez et al., 2015, pág. 4).

La utilización de zanahoria como sustrato en este producto beneficiará al crecimiento de bacterias ácido-lácticas debido a que es una excelente fuente de vitaminas y minerales, posee grandes cantidades de hidratos de carbono y betacarotenos (Tirador, 2011, pág. 33), con lo cual se obtendrá un producto probiótico con mejores características sensoriales, nutritivas y que benefician a la salud. La zanahoria de acuerdo con la Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 1747, 2013, pág. 1), es la raíz de la planta herbácea, cuyo nombre científico es *Daucus carota sativus*, posee un 90% de

agua, 1% de fibras de celulosa y 7% de azúcares. (Rosamel, 2019, págs. 85-90). Se produce principalmente en la provincia de Chimborazo, con 10 300 toneladas anuales, siendo la producción total 28 130 toneladas. (Cruz et al., 2018 págs. 26-35)

Con la combinación de bacterias ácido-lácticas y zanahoria, se obtiene una bebida probiótica sumamente agradable, debido a que el contenido de la zanahoria es muy apetecible por las características sensoriales que posee, principalmente por su sabor dulce, que se debe a su contenido en compuestos fenólicos, ácidos clorogénicos y algunos terpenos. (Rosamel, 2019, pág. 90).

CAPÍTULO I

1. DIAGNÓSTICO DEL PROBLEMA

1.1 Planteamiento del problema

Los microorganismos están presentes en prácticamente todo ambiente y lugar, por lo que existe una gran diversidad microbiana. El mundo busca constantemente la innovación, así como también busca el máximo aprovechamiento de los recursos que brinda la tierra, y esto puede lograrse en parte con los microorganismos ya que son de gran interés biotecnológico debido a los beneficios que brinda su consumo y, a que pueden ser empleados en la elaboración de diferentes productos, (Ostos et al., 2019 págs. 9-12). Es por lo que, la utilización de bacterias ácido-lácticas obtenidas del Bosque Primario-Pungalá, resulta de gran interés de estudio, al darles posibles aplicaciones como en este caso la elaboración de bebidas probióticas destinadas al ámbito alimenticio.

Por otra parte, en la actualidad la humanidad busca consumir alimentos de calidad, nutritivos y funcionales, lo cual se busca con la elaboración de esta bebida probiótica. Las bacterias ácido-lácticas son utilizadas en alimentos para proporcionar una amplia variedad de beneficios saludables. Algunos beneficios de consumir bacterias probióticas son la disminución de pH dentro del intestino, la producción de sustancias con efecto antibacterial como lo son los ácidos orgánicos, enzimas que benefician la digestión, influye en la reconstrucción y construcción de la microflora intestinal normal después de ser sometidos a antibióticos etc. (Parra, 2010, págs. 9-10)

1.2 Justificación

El uso de microorganismos dentro de la biotecnología alimentaria es usado ampliamente para la obtención de diversos alimentos, el poder aprovechar los recursos que nos brinda la naturaleza, utilizando las bacterias ácido-lácticas que han sido aisladas del Bosque Primario-Pungalá en anteriores investigaciones resulta de gran interés, lo que se busca es elaborar un producto nutritivo y a la vez funcional, que brinde variedad de beneficios saludables al consumidor. El uso de la zanahoria para la elaboración de la bebida probiótica resulta factible, debido a que la producción a nivel mundial de zanahoria sobrepasa los 14 millones de toneladas y en Ecuador se cultiva en las principales provincias de Chimborazo, Cotopaxi y Tungurahua, en las cuales se aporta el 94% de la producción nacional, (Pereira, 2021, pág. 16).

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Elaborar bebidas probióticas de zanahoria, utilizando bacterias ácido-lácticas aisladas del Bosque Primario-Pungalá

1.3.2 Objetivos específicos

- Determinar la cinética de crecimiento de las bacterias ácido-lácticas (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus bulgaricus* YAU-1432) en diferentes tiempos: 0, 24, 48 y 72 horas.
- Analizar los aspectos fisicoquímicos, microbiológicos y sensoriales de la bebida probiótica elaborada con bacterias ácido-lácticas aisladas (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus curvatus*), frente a una comercial (*Lactobacillus bulgaricus* YAU-1432).
- Establecer los costos de producción mediante el indicador beneficio/costo.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Bacterias ácido-lácticas (BAL)

2.1.1 Condiciones de desarrollo de Bacterias ácido-lácticas: *Lactobacillus*

Los *Lactobacillus* son mesófilos, se desarrollan a temperaturas que oscilan entre 30°C y 40°C, sobreviven a temperaturas de 2°C a 53°C y se inactivan a temperaturas que sobrepasan los 70°C. Son anaerobios (no requieren oxígeno para su desarrollo), pero son capaces de sobrevivir en presencia de 5% de oxígeno, y crecen en pH que varían de 3,8 a 6,2. (Valverde, 2020, pág. 8)

2.1.2 Clasificación de las Bacterias ácido-lácticas

Las BAL se dividen en homofermentativas (*L. delbrueckii*, *L. lactis*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, *L. plantarum* y *L. curvatus*) y heterofermentativas (*L. brevis* y *L. fermentum*), según los productos de su metabolismo. (Nanfra et al., 2021 pág. 2). Las homofermentativas producen ácido láctico como único resultado de la fermentación de los carbohidratos y las heterofermentativas a más de producir ácido láctico, también producen CO₂, ácido acético o etanol, (Zárate, 2020, págs. 21-22).

2.2 *Lactobacillus*

2.2.1 Clasificación científica de *Lactobacillus*

Las especies del género *Lactobacillus* se encuentran en la nutrición humana, microbiología de los alimentos y en alimentos fermentados.

Tabla 2-1: Clasificación de *Lactobacillus*

Dominio	<i>Bacterias</i>
Filo	<i>Firmicutes</i>
Clase	<i>Bacilos</i>
Orden	<i>Lactobacillales</i>
Familia	<i>Lactobacillaceae</i>
Género	<i>Lactobacillus</i>
Especie	<i>L. plantarum</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>L. curvatus</i> , <i>L. lactis</i> , etc.

Fuente: (Sudhanshu et al., 2018 pág. 2)

2.2.1.1 *Lactobacillus plantarum*

L. plantarum es una BAL tinción gran positiva, en forma de cocobacilos y bacilos cortos, no produce gas, es considerada segura, y se utiliza en fermentación de productos lácteos, vegetales y productos cárnicos. Estos microorganismos benefician al cerebro, intestino y corazón, es de gran interés biotecnológico para el desarrollo de productos probióticos (Liu et al., 2018 págs. 601-613). Además, beneficia la biopreservación de alimentos, e inhibe: *E. coli*, enteropatógenos, elimina patógenos dentro del intestino aumentando la mucina intestinal. (Osorio, 2018, pág. 22)

2.2.1.2 *Lactobacillus curvatus*

L. curvatus es un microorganismo relacionado con la fermentación, posee forma de cocos y son tinción gran positiva, es capaz de producir ácidos orgánicos a partir de carbohidratos, forma parte de las BAL, Produce bacteriocina *Curvacin A*, que inhibe la *Listeria sp.*, es utilizado generalmente en productos cárnicos curados, (Lobo, 2017, págs. 15-16).

2.2.1.3 *Lactobacillus Bulgaricus*

Esta bacteria se desarrolla en condiciones anaerobias, su temperatura de crecimiento óptimo es de 37°C, a nivel de laboratorio es ideal el agar MRS como medio de cultivo, mientras que su periodo de incubación son 2 días, (Ramos, 2020, pág. 17). Por otra parte *L. Bulgaricus* es un microorganismo de catalasa negativa, inmóvil, tinción Gram positiva, no forma esporas, posee forma de bacilos, y sus colonias varían de 1 a 3mm. (ISO 7889, 2003, págs. 1-11)

2.3 Fermentación láctica

La fermentación láctica es un proceso celular donde a partir de la glucosa se obtiene energía, dando como resultado ácido láctico y bacteriocinas como metabolitos primarios. Las bacterias toman la lactosa como alimento. (Moyano, 2018, pág. 13)

El ácido láctico es una molécula orgánica resultado del metabolismo anaerobio láctico. Es empleado como acidificante, regulador de pH y conservante, acelerar procesos fermentativos, aumentar la estabilidad y dar un sabor agrio en alimentos lácteos (Clapa, 2022, pág. 1). Su consumo fortalece el sistema inmunológico, absorción de minerales y vitaminas, posee cualidades antioxidantes y protege de infecciones (Brennan, 2021, págs. 1-5).

Las bacteriocinas poseen estructura proteica y acción bactericida, son conservantes naturales que no cambian las características organolépticas del producto. (Baque, y Romero, 2021 pág. 31)

2.4 Bacterias ácido-lácticas aisladas del Bosque Primario-Pungalá

En la investigación titulada “Microorganismos de uso agroindustrial aislados del suelo de un bosque primario de la Parroquia Pungalá cantón Riobamba” realizada por (Duchi, 2022, pág. 15), se aislaron, identificaron y purificaron bacterias ácido-lácticas con fines Agroindustriales.

2.5 Probióticos

Un probiótico es un producto que contienen cepas de microorganismos vivos que al administrarse en cantidades suficientes tiene un efecto benéfico en la salud del huésped. (Oliveira y González, 2007 pág. 5). Para ser considerado como probiótico el producto debe contener de entre $>10^6 - 10^8$ UFC/ml. (Corrales & Arias, 2020 págs. 54-66)

Según (García et al., 2018 pág. 110) en su estudio menciona que para que las bacterias lácticas sean referidas como probióticos y brinden un efecto benéfico en la salud de su consumidor las cantidades ideales son en un rango de $10^6 - 10^7$ UFC/ml dentro del producto.

2.6 Cinética de crecimiento de las bacterias ácido-lácticas

2.6.1 *Lactobacillus bulgaricus*

(Olivera, 2018, pág. 104) en su investigación sobre Selección de bacterias ácido-lácticas autóctonas de leche, al estudiar la cinética de crecimiento de *L. bulgaricus* registró una población de $4,90 \times 10^9$ UFC/ml a las 24 horas y a las 48 horas una población de $2,82 \times 10^9$ UFC/ml luego de haber inoculado el microorganismo en caldo MRS (diluciones con NaCl 0.85%), con una población inicial a las 0 horas de $1,58 \times 10^7$ UFC/ml. En el mismo estudio se estableció que este microorganismo reduce el pH a las 48 horas hasta un 4,18.

En la investigación de (Chele y Saona, 2016 pág. 67) sobre la Evaluación de la viabilidad de la bacteria probiótica *Lactobacillus paracasei* en cocultivo con *Lactobacillus bulgaricus* a diferentes concentraciones de inóculo en leche, se analizó la cinética de crecimiento bacteriano del *L. bulgaricus* en leche realizando un recuento en placa con agar MRS, donde la población inicial fue de $4,40 \times 10^4$ UFC/ml, a las 24 horas de $3,05 \times 10^5$ UFC/ml, a las 48 horas de $1,22 \times 10^7$ UFC/ml

y a las 72 horas de $2,40 \times 10^7$ UFC/ml y se estableció que este microorganismo es capaz de producir hasta un 1,7% de ácido láctico durante su fermentación en leche.

(Miranda et al., 2018 pág. 8) en su estudio “Obtención, caracterización y evaluación de candidatos a probióticos desarrollados con residuos agroindustriales” estableció que el *L. bulgaricus*, en condiciones de desarrollo de 37°C durante 24h en caldo MRS, presentan una concentración microbiana y de $9,3 \times 10^8$ UFC/ml, utilizando como sustrato melaza de caña de azúcar

2.6.2 *Lactobacillus plantarum*

(Ossa et al., 2010 págs. 97-102) en su estudio sobre la Evaluación de sustratos para el crecimiento de *L. plantarum*”, realizaron un recuento, donde el inóculo inicial a las 0 horas fue de 1×10^2 UFC/ml, y se determinó el crecimiento, por medio de recuentos en placa sometidas a 30°C, a las 24 horas se registró una población de $4,3 \times 10^9$ UFC/ml, con un pH de $5,2 \pm 0,1$.

(Vera et al, 2021 págs. 1-9) en su estudio “Obtención de un candidato a probiótico de *Lactobacillus plantarum* a partir de un medio de cultivo natural con materias primas agroindustriales”, realizó un conteo microbiano del *L. plantarum* utilizando agar MRS, donde a las 24 horas obtuvo una población de 1×10^{10} UFC/ml y a las 48 horas 1×10^{12} UFC/ml, con una población inicial a las 0 horas de $3,16 \times 10^4$, utilizando como sustrato una combinación de melaza y suero de leche.

(Proaño, 2013, págs. 1-7) en su estudio sobre El efecto del uso de probióticos (*lactobacillus plantarum* & *lactobacillus casei*) y enzimas, en la fermentación ácido-láctica” evaluó la cinética de crecimiento en zumo de camote del *L. plantarum* y determinó un crecimiento exponencial hasta las 24 horas con $5,01 \times 10^7$ UFC/ml y hasta las 48 horas con $6,3 \times 10^7$ UFC/ml, después del cual inició la fase estacionaria hasta las 72 horas, para el recuento bacteriano se ocupó agar MRS.

2.6.3 *Lactobacillus curvatus*

En el estudio realizado por (Yang et al, 2018 pág. 8) sobre “Influencia de los medios de cultivo, pH y temperatura en el crecimiento y producción de bacteriocinas de bacterias del ácido láctico” se analizó el crecimiento de *L. curvatus* utilizando como sustrato BHI a 44°C, donde la curva de crecimiento exponencial fue de las 0 (1×10^7 UFC/ml) a 16 horas ($3,16 \times 10^{10}$ UFC/ml), a partir de la cual empezó su fase estacionaria y luego su fase de muerte hasta las 24 h (1×10^{10} UFC/ml).

(Terán et al, 2023 págs. 5-6) en su investigación sobre la cinética de crecimiento del *L. curvatus*, evaluaron la cinética de crecimiento del *L. curvatus* en agar CDM (calcio, nitrito, sacarosa, ácido ascórbico) a temperaturas de 30°C durante 48h, obteniendo un crecimiento máximo de $4,44 \times 10^7$ y $5,07 \times 10^7$ UFC/ml, hasta las 10-12 horas de incubación, el inóculo a las 0 horas fue 5×10^6 UFC/ml. Este crecimiento estuvo relacionado con la disminución de pH alcanzando valores mínimos de 4,23.

(Sarabia, 2011, pág. 151) en su investigación sobre cultivos iniciadores, analizó la cinética de crecimiento del *L. curvatus* en agar MRS por 48 horas a 37°C, obtuvo un crecimiento exponencial de las 0 horas con $2,30 \times 10^4$ UFC/ml a las 24 horas con $7,90 \times 10^4$ UFC/ml, que se extendió a las 48 horas con $5,50 \times 10^5$ UFC/ml, con una fase estacionaria hasta las 72 horas con $5,95 \times 10^5$ UFC/ml.

2.7 Aspectos fisicoquímicos de bacterias ácido-lácticas en bebidas probióticas

De acuerdo con la Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 2395, 2011, págs. 1-5) sobre “Leches fermentadas. Requisitos”, se establecen los requisitos en cuanto a grasa y proteína que se aplican a leches fermentadas con adición de microorganismos probióticos:

Tabla 2-2: Especificaciones de las leches fermentadas

Requisitos	Entera		Semidescremada		Descremada		Método de ensayo
	Min %	Max %	Min %	Max %	Min %	Max %	
Grasa	2,5	...	1.0	<2,5	...	<1,0	NTE INEN 12
Proteína, % m/m en yogurt, kéfir, kumis, leche cultivada	2,7	...	2,7	...	2,7	...	NTE INEN 16

Fuente: (INEN 2395, 2011, pág. 3)

Por otra parte, el (CODEX STAN 243, 2022, págs. 2-3) sobre leche y productos lácteos establece los requisitos en cuanto a la composición de leches fermentadas:

Tabla 2-3: Requisitos de composición de leches fermentadas

Requisitos	Leche fermentada
Proteína láctea %	min 2,7 %
Grasa láctea %	menos del 10%
Acidez valorable expresada como % de ácido láctico	min 0,3%
Suma de microorganismos que comprenden el cultivo (<i>Streptococcus thermophilus</i> y toda especie de <i>Lactobacillus</i>) en ufc/ml	min 10 ⁷

Fuente: (CODEX STAN 243, 2022, págs. 2-3)

2.7.1 Ácido láctico y pH

De acuerdo con la norma (INEN 13, 1984, págs. 1-7), los productos lácteos sometidos a procesos fermentativos deben contener un porcentaje de ácido láctico de 0,8 % a 1,8% y un pH de 4,2 a 4,8, siendo 4,6 el pH óptimo, según lo establece la (NOM-051-SCFI/SSA1, 2010, págs. 1-98) (Ley General de Salud en México)

En el estudio de (Pérez y Sánchez 2023, págs. 2-3) sobre “Leches fermentadas: Aspectos nutritivos, tecnológicos y probióticos más relevantes” se establece que las BAL modifican las características de la leche durante la fermentación, prefieren los ambientes ligeramente ácidos para un mejor desarrollo, reducen el pH de 4,5-5,8, este medio crea condiciones indeseables para patógenos y permite el mejor desarrollo para los microorganismos probióticos.

(Barrientos, 2011, págs. 25-27) en su investigación sobre las propiedades fisicoquímicas de la leche en procesos fermentativos, registró que al utilizar *L. bulgaricus*, el contenido de ácido láctico fue de 1,7%. (Lluglla, 2020, págs. 30-36) en su investigación sobre el Desarrollo de una bebida de harina de caña de maíz y salvado de arroz con doble fermentación, utilizando suero de leche, determino que el *L. bulgaricus* llega a disminuir el pH hasta lograr un 2,7% de ácido láctico.

(Proaño, 2013, pág. 4) en su estudio “Efecto del uso de Probióticos (*Lactobacillus plantarum* & *Lactobacillus casei*) y enzimas, en la fermentación ácido-láctica” determinó que los cambios en el lacto-jugo de vegetales fermentados como la zanahoria son la reducción de pH (3,8 a 4,5) e incremento de acidez. Estableció que a las 48 horas de fermentación del *L. plantarum*, el ácido láctico es de 1,23%, con pH de 3,13-3,57.

En el estudio de (Martínez, 2018, pág. 25) “Efecto de la fermentación de la leche con diferentes bacterias lácticas en las características de las leches fermentadas” se determinó que la leche

fermentada con *L. curvatus*, presentó 0,65% de ácido láctico y pH de 4,32, al utilizar *L. bulgaricus*, el ácido láctico fue 0,60% y el pH 4,48 mientras que al utilizar *L. plantarum* el ácido láctico fue 0,48% y el pH 4,93, presentando diferencias.

2.7.2 Proteína y grasa

(Martínez, 2018, pág. 22) en su investigación, estableció que el contenido de proteína al utilizar *L. curvatus* fue 3,39%, al utilizar *L. bulgaricus*, fue 3,64% y al utilizar *L. plantarum* fue 3,48%. Por otra parte, determinó que el contenido de grasa al utilizar *L. curvatus* fue $3,87 \pm 0,35\%$, al utilizar *L. bulgaricus*, fue $4,23 \pm 0,22\%$ y al utilizar *L. plantarum* fue de $3,76 \pm 0,19\%$, concluyendo que estadísticamente no existen diferencias significativas en cuanto a grasa.

(Lluglla, 2020, pág. 36) en su investigación sobre el Desarrollo de una bebida a base con doble fermentación.” menciona que la fermentación es un factor importante en la cantidad de proteína obtenida debido a que las BAL producen hidrolasas que hidrolizan las proteínas, este proceso consta de dos etapas, la primera es la desnaturalización y la segunda la degradación de las proteínas, esta degradación es la que provoca la pérdida de la actividad proteica.

2.8 Aspectos antimicrobianos de bacterias ácido-lácticas en alimentos

Las BAL sintetizan compuestos antibacterianos de naturaleza peptídica (cadenas cortas de aminoácidos) llamados bacteriocinas, que pueden actuar sobre las esporas y microorganismos de deterioro durante su germinación. Su producción se da durante la fase exponencial de crecimiento y que cesa en la fase estacionaria. (Olivera, 2018, pág. 59)

(Vásquez et al., 2009 pág. 8) en su estudio “Evaluación de bacteriocinas como medio protector para la biopreservación” menciona que el mejor tratamiento para el control de coliformes e inhibición de *Salmonella*, *E. coli* y *Listeria* fueron al utilizar bacteriocinas producidas por *L. plantarum*.

Las BAL del género *Lactobacillus* reducen el crecimiento patógeno, bacterias y hongos por competencia de sustratos y por la producción de metabolitos antimicrobianos como ácidos orgánicos, bacteriocinas, enzimas etc. (Herrera, 2021, pág. 10)

En el estudio sobre “Caracterización de los metabolitos de bacterias ácido-lácticas y efecto inhibitorio de las bacteriocinas en microorganismos patógenos en alimentos” se establece que el *Lactobacillus plantarum* posee un gran poder inhibitorio gracias a las bacteriocinas, siendo activo

frente a bacterias Gram negativas, teniendo efecto en *Escherichia coli* y *Salmonella spp.*, dentro de productos lácteos, frutas y aguas. (Fernández et al., 2014 pág. 57)

(Caro y León, 2014 pág. 192) en su investigación sobre la Inhibición del crecimiento de *Aspergillus ochraceus* mediante fermentación, menciona que el ácido láctico en concentraciones de 0,2% a 2.5% es capaz de inhibir bacterias y hongos

2.8.1 *Requisitos microbiológicos en leches fermentadas (INEN 2395, 2011, págs. 1-5)*

En esta norma se encuentran las leches fermentadas adicionadas con microorganismos probióticos, donde se establecen los requisitos microbiológicos:

Tabla 2-4: Requisitos microbiológicos: leche fermentada sin tratamiento térmico luego de la fermentación

Requisito	n (No muestras)	m (máx. nivel de buena calidad)	M (máx. nivel aceptable de calidad)	Método de ensayo
Coliformes totales, UFC/ml	5	10	100	NTE INEN 1529-7
Recuento de <i>E. coli</i> , UFC/ml	5	<1	-	NTE INEN 1529-8
Recuento de mohos y levaduras, UFC/ml	5	200	500	NTE INEN 1529-10
Producto	Yogurt, leche cultivada, leches fermentadas con ingredientes y leche concentrada			
		Mín.		Máx.
Bacterias probióticas		10 ⁶ UFC/ml		...

Fuente: (NTE INEN 2395, 2011, págs. 1-5)

2.9 Aspectos sensoriales de productos alimenticios con bacterias ácido-lácticas

(Lluglla, 2020, págs. 30-36) en su investigación menciona que el pH y acidez influyen en el color, olor, sabor y estabilidad microbiana de productos fermentados. (Parra, 2010, págs. 6-10) establece que las BAL son utilizadas en la agroindustria no solamente por su habilidad de acidificar y preservar alimentos, sino que también aportan textura, sabor, olor y desarrollan el aroma de los alimentos fermentados, esto gracias a la producción de pequeñas cantidades de acetaldehído y diacetaldehído por la fermentación de citratos, otorgando así sabor y aromas agradables.

(Ramírez et al., 2011 págs. 5-6) en su investigación estableció que el *L. bulgaricus* provee un sabor y gusto suave y delicado, por lo que se muy utilizado en bebidas fermentadas a base de leche. (Proaño, 2013, págs. 1-7) en su estudio sobre “Efecto del uso de probióticos (*Lactobacillus plantarum* & *Lactobacillus casei*) y enzimas amilasas & pectinasas, en la fermentación ácido-láctica de camote” realizó un análisis sensorial de una fermentación láctica, donde el tratamiento con *L. plantarum* fue asignado por los catadores como el mejor en sabor, aceptabilidad y acidez.

(Morais, 2004, pág. 92) realizó un estudio de adecuación de cepas lácticas autóctonas aisladas de leche cruda de oveja, donde realizó diferentes combinaciones de fermentos encontrándose dentro de estos el *L. curvatus*, *L. plantarum*, *L. lactis*. Etc., donde se determinó que el *L. curvatus* provoca un efecto de rancidez en el producto según lo describieron los catadores.

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1 Localización y duración del experimento

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en la planta de procesamiento ARSAICO Cía. Ltda., localizada en el Km 2 ½ S/N vía Chambo-Quimiag de la comunidad Airón Chambo-Chimborazo. La investigación experimental fue desarrollada en los laboratorios de Ciencias Biológicas y el laboratorio de Bromatología y Nutrición Animal de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Panamericana Sur km 1½, localizada en la parroquia Lizarzaburu del cantón Riobamba de la Provincia de Chimborazo.

3.2 Duración del experimento

Los análisis experimentales microbiológicos, bromatológicos y sensoriales tuvieron una duración aproximada de 70 días.

3.3 Unidades experimentales

Para la elaboración de esta bebida se determinaron 15 unidades experimentales de 250 ml cada bebida, con lo que se obtendrá un total de 3750 ml provenientes de los 3 tratamientos con 5 repeticiones cada uno.

3.4 Materiales, Equipos e Insumos

3.4.1 *Materiales*

- Mascarilla
- Cofia
- Guantes
- Mandil
- Papel film
- Papel aluminio
- Toallas de cocina
- Cotonetes de madera

- Espátula
- Frascos termorresistentes
- Cajas Petri
- Vasos de precipitación
- Matraces
- Probetas
- Tubos de ensayo
- Gradillas
- Mechero
- Pipetas Pasteur
- Pipetas
- Micropipetas
- Puntas plásticas de 10 ml
- Puntas plásticas de 1 ml
- Papel filtro N°4
- Tamizador
- Bureta
- Soporte universal
- Termómetros
- Recipientes de vidrio de 250ml
- Butirómetros Gerber
- Pinzas

3.4.2 Equipos

- Desecador
- Incubadora
- Autoclave
- Cuenta colonias
- Extractor de pulpas
- Balanza analítica
- Agitador magnético
- Refrigerador
- Cámara de flujo laminar
- Reverbero eléctrico

- Centrífuga
- Equipo de titulación
- Equipo de Kjeldahl
- Equipo de destilación

3.4.3 *Insumos*

- Zanahoria
- Azúcar
- Gelatina
- Sorbato de potasio
- Agua destilada
- Agar MRS
- Caldo MRS
- Agar PDA
- Agar MacConkey
- Agar verde brillante
- Alcohol al 70%
- Alcohol al 97%
- *Lactobacillus plantarum*
- *Lactobacillus curvatus*
- *Lactobacillus bulgaricus* YAU-1432
- Ácido sulfúrico
- Alcohol amílico
- Ácido sulfúrico 0,1N
- Hidróxido de sodio
- Ácido bórico
- Tabletas Kjeldahl
- Ácido clorhídrico
- Indicador Tashiro
- Fenolftaleína

3.5 Tratamientos y Diseño Experimental

En el presente trabajo de investigación se utilizaron 3 tratamientos experimentales (*Lactobacillus bulgaricus* YAU-1432, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus curvatus*) por cada bebida elaborada, mismas que fueron de 250 ml cada una, el tratamiento 1 actuó como testigo. Las mediciones experimentales fueron modeladas bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA), cuyo modelo lineal es el siguiente:

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

Y_{ij} = Valor del parámetro en determinación (observación i repetición j)

μ = Efecto de la media observación

α_i = Efecto de los tratamientos

ϵ_{ij} = Efecto del error experimental (factores no controlados)

Tabla 3-1: Esquema del experimento

Tratamientos	Código	N° Repeticiones	T.U.E.* (ml)	ml/Trat.
T1: <i>Lactobacillus bulgaricus</i> YAU-1432	T1	5	250	1250
T2: <i>Lactobacillus plantarum</i>	T2	5	250	1250
T3: <i>Lactobacillus curvatus</i>	T3	5	250	1250
Total, mililitros				3750

*T.U.E.: Tamaño de la unidad experimental

Realizado por: Vinuesa O., 2023.

Tabla 3-2: Esquema ADEVA

Fuente de variación	Grados de libertad
Total	(n-1) = 14
Tratamientos	(t-1) = 2
Error	(n-1) – (t-1) = 12

Realizado por: Vinuesa O., 2023.

3.6 Mediciones experimentales

Las mediciones experimentales fueron fundamentadas en la norma (CODEX STAN 243, 2022, págs. 2-3) y en la Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 2395, 2011, págs. 1-5) para leches fermentadas:

3.6.1 *Cinética de crecimiento de las bacterias ácido-lácticas*

3.6.1.1 *Análisis microbiológico*

- Recuento de Bacterias Ácido-Lácticas (UFC/ml)

3.6.2 *Aspectos fisicoquímicos, microbiológicos y sensoriales de la bebida probiótica*

3.6.2.1 *Análisis fisicoquímicos*

- Proteína (%)
- Grasa (%)
- Acidez (calculada como ácido láctico %)
- pH a 20°C

3.6.2.2 *Análisis microbiológico*

- Coliformes totales, UFC/ml
- Escherichia coli, UFC/ml
- Mohos y levaduras, UFC/ml
- Bacterias Ácido-Lácticas UFC/ml

3.6.2.3 *Análisis sensorial*

- Olor
- Color
- Sabor

3.6.3 Costos de producción

- Costos de producción USD/ml

3.7 Análisis Estadísticos y Pruebas de significancia

- Análisis de varianza (ADEVA), para la diferencia de las medias
- Separación de medias ($P \leq 0,05$) a través de la Prueba de Tukey
- Estadística descriptiva
- Prueba de Kruskal-Wallis

3.8 Procedimiento experimental

3.8.1 Formulación de la bebida probiótica de zanahoria

En la tabla 3-3 se establece la formulación utilizada para cada tratamiento:

Tabla 3-3: Formulación de la bebida probiótica de zanahoria con diferentes especies de *Lactobacillus*

Descripción	Cantidad (%)
Leche	40,00
Zumo de zanahoria	5,694
Azúcar	3
Sorbato de potasio	0,004
Gelatina	0,001
Probiótico (<i>Lactobacillus</i>)	0,005
Total	100 %

Realizado por: Vinuesa O., 2023.

3.8.2 Elaboración de la bebida probiótica de zanahoria

Para la elaboración de la bebida probiótica de zanahoria con diferentes especies de *Lactobacillus*, se realizó el procedimiento detallado a continuación, mismo que fue basado en el estudio de (Huapaya, 2014, págs. 54-55).

3.8.2.1 Recepción de la materia prima

Las zanahorias utilizadas son de la variedad preda (tierna, jugosa y posee sabor dulce) y se obtuvo de la empresa ARSAICO Cía. Ltda., y la leche entera pasteurizada de Nutrileche.

3.8.2.2 Limpieza y desinfección (Materiales y equipos)

Se limpiaron y desinfectaron todos los equipos y materiales a utilizar dentro del proceso de elaboración con alcohol al 70%, alcohol al 97%, y con el uso de una autoclave

3.8.2.3 Selección

Se seleccionaron las hortalizas (zanahorias), verificando los daños físicos aparentes.

3.8.2.4 Lavado y desinfección

Se lavaron las zanahorias con agua potable, para eliminar la suciedad y se desinfectaron con una solución de agua destilada y cloro (1,25ml/lit), sumergiéndolas en la solución preparada durante 5 min. Se lavaron las hortalizas y se escurrieron. (OIRSA, 2020, pág. 8)

3.8.2.5 Pelado

Se pelaron las zanahorias eliminando toda su corteza

3.8.2.6 Despulpado mecánico

Con un extractor de pulpas se separó la materia seca para obtener el extracto de zanahoria

3.8.2.7 Filtrado

Se filtró el extracto con papel filtro N°4, eliminando así todo tipo de impurezas.

3.8.2.8 Mezclado y homogenización

Se mezclaron la leche y el extracto de zanahoria y se procedió a homogenizarlos en una licuadora durante 30 segundos.

3.8.2.9 Pasteurización

Una vez homogenizado los ingredientes a 75°C durante 10 min, se adicionó azúcar

3.8.2.10 Enfriado

Realizado para provocar el golpe térmico mediante un baño en agua a 6°C, hasta alcanzar 20°C

3.8.2.11 Adición de estabilizante

Se añadió gelatina sin sabor para que funcione como estabilizante

3.8.2.12 Adición de conservante

Se añadió sorbato de potasio que actuó como conservante, inhibiendo hongos y levaduras

3.8.2.13 Inoculación e incubación de bacterias ácido-lácticas

Se adicionaron los microorganismos a 30°C por un periodo de incubación de 48 horas.

3.8.2.14 Envasado

Se lo realizó de forma manual a una temperatura de 20°C en envases de vidrio de 250ml

3.8.2.15 Almacenamiento

Refrigeración a 4°C para mantener las propiedades organolépticas y detener la fermentación.

3.9 Metodología de Evaluación

3.9.1 Análisis microbiológico

3.9.1.1 Coliformes totales

Se basó en la norma (INEN 1529-7, 1990, págs. 3-6), con la técnica de recuento en placa por siembra en profundidad en Agar Cristal Violeta-rojo neutro Bilis (VRB), incubando a $30 \pm 1^\circ\text{C}$.

3.9.1.2 *Escherichia coli*

Para determinar la presencia de *E. coli*, se utilizó Agar Mac Conkey, a temperatura de incubación de 37°C. Se tomó como base de análisis la norma (INEN 1529-8, 1990, págs. 5-6), donde se especifica que la incubación de placas invertidas se realiza a una temperatura de 35 a 37°C, durante 24 horas.

3.9.1.3 *Mohos y levaduras*

Se realizó un cultivo entre 22°C y 25°C, con la técnica de recuento en placa por siembra en profundidad, utilizando agar PDA (Potato Dextrosa Agar) fundido y templado a $45 \pm 2^\circ\text{C}$. El proceso se realizó según lo establece la norma la norma (INEN 1529-10:98, 1998, págs. 3-7).

3.9.1.4 *Bacterias ácido-lácticas*

Se tomó como base la norma (ISO 16068, 2013, págs. 7-11), se utilizó agar Man Rogosa y Sharpe (MRS), inoculación en placa vertida y un tiempo de inoculación de 72 h a temperatura de 30°C.

3.9.2 *Análisis fisicoquímicos*

3.9.2.1 *Proteína*

Esta determinación se realizó por duplicado, identificando el contenido de nitrógeno total mediante el método de Kjeldahl, y multiplicando esto por el factor 6,38 para ser expresado como proteína. El procedimiento se basó en la norma (INEN 16, 1984, págs. 3-6).

3.9.2.2 *Grasa*

La determinación de grasa se realizó en base a la norma (INEN 12, 1973, págs. 3-5) mediante el método de Gerber, con una separación mediante acidificación y centrifugación de la materia grasa, determinando su contenido mediante una lectura directa en un butirómetro estandarizado.

3.9.2.3 *Acidez (expresada como contenido de ácido láctico)*

Se realizó una titulación con una solución estandarizada de hidróxido de sodio, utilizando fenolftaleína como indicador, siguiendo el procedimiento de la norma (INEN 13, 1984, págs. 1-5)

3.9.2.4 pH

Se utilizó un medidor de pH, que midió la acidez mediante aparatos comerciales estandarizados frente a soluciones tampón estándar, siguiendo lo establecido por (AOAC 973.41, 1998, págs. 1-5)

3.9.3 *Análisis sensorial*

Se utilizaron las directrices para el uso de escalas de respuestas cuantitativas presentes en la norma (NTE INEN-ISO 4121, 2014, págs. 1-10). Se realizó una prueba de aceptabilidad con una escala hedónica donde “mala” tendrá una valoración de 1 y “excelente” tendrá una valoración de 5, esta prueba se logró realizar con la participación de 150 panelistas no entrenados, con una cantidad de 50ml por muestra de bebida probiótica, donde los panelistas evaluaron parámetros de olor, color y sabor.

3.9.4 *Costos de producción*

Los costos de producción de la bebida probiótica se realizaron por medio de las ecuaciones presentadas a continuación:

$$\text{Costo de producción} = \text{total de egresos cantidad} / \text{de ml de bebida elaborada}$$

$$\text{Beneficio / Costo} = \text{total de ingresos} / \text{costo por ml de bebida probiótica}$$

CAPÍTULO IV

4. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1 Cinética de crecimiento de tres especies de *Lactobacillus*

Los resultados obtenidos de la cinética de crecimiento de las diferentes especies de *Lactobacillus* se presentan en la tabla 4-1.

Tabla 4-1: Cinética de crecimiento de tres especies de *Lactobacillus* en diferentes tiempos

Tiempo (horas)	<i>Lactobacillus</i> (UFC/ml)			E. E	Prob.
	<i>Curvatus</i>	<i>Plantarum</i>	<i>Bulgaricus</i> YAU- 1432		
0	1,95 x 10 ³ a	1,04 x 10 ³ c	1,08 x 10 ³ b	9,49	0,0001
24	3,95 x 10 ⁷ a	3,25 x 10 ⁷ b	3,18 x 10 ⁷ c	8,4 x 10 ⁴	0,0001
48	5,82 x 10 ⁷ a	4,54 x 10 ⁷ b	4,53 x 10 ⁷ b	1,0 x 10 ⁵	0,0001
72	5,96 x 10 ⁷ a	5,17 x 10 ⁷ b	4,57 x 10 ⁷ c	1,1 x 10 ⁵	0,0001

E.E. Error estándar

Prob. < 0,01 Hay diferencias altamente significativas (**)

Medias con letras iguales en una misma fila no difieren estadísticamente.

Realizado por: Vinuesa O., 2023.

Como indica la tabla 4-1 el mayor crecimiento microbiológico se registró en el *Lactobacillus curvatus* con 5,82 x 10⁷ UCF/ml y 5,96 x 10⁷ UCF/ml a las 48 y 72 horas respectivamente y un menor crecimiento en el *Lactobacillus bulgaricus* con 4,53 x 10⁷ UFC/ml y 4,57 x 10⁷ UFC/ml a las 48 y 72 horas, registrándose diferencias estadísticas entre los tratamientos estudiados. Esto posiblemente se deba a la influencia del sustrato utilizado. Estos resultados son superiores a lo registrado por (Terán et al, 2023 págs. 5-6) quienes obtuvieron poblaciones de 5,07 x 10⁷ UFC/ml, en su investigación sobre cinética de crecimiento de *Lactobacillus curvatus* donde utilizaron como sustrato caldo CDM a 30°C, e inferiores a lo registrado por (Yang et al, 2018 pág. 8), en su investigación sobre la influencia de medios de cultivo, pH y temperatura en el crecimiento de bacterias ácido lácticas, donde obtuvo poblaciones de 1 x 10¹⁰ UFC/ml, al analizar la cinética de crecimiento del *Lactobacillus curvatus* utilizando BHI como sustrato a 44°C, esta diferencia posiblemente se deba al sustrato y temperaturas utilizadas.

Con respecto al *Lactobacillus. bulgaricus*, los resultados registrados son superiores a lo establecido por (Chele y Saona, 2016 pág. 67) en su investigación sobre “Evaluación de viabilidad de la bacteria probiótica *Lactobacillus paracasei* en cocultivo con *Lactobacillus bulgaricus* a diferentes concentraciones en leche”, donde se obtuvo un crecimiento máximo de 2,40x10⁷ UFC/ml a partir de una población inicial de 4,40x10⁴ UFC/ml, e inferiores a los obtenidos por

(Olivera, 2018, pág. 104) en su investigación sobre “Selección de bacterias ácido-lácticas autóctonas de leche” donde obtuvo una carga microbiana máxima de $5,01 \times 10^9$ UFC/ml, a partir de una población inicial de $1,58 \times 10^7$ UFC/ml. Estas diferencias pudieron ser causadas por efecto de la carga microbiana inicial utilizada.

4.2 Caracterización fisicoquímica

Las características fisicoquímicas de la bebida probiótica de zanahoria elaborada con diferentes especies de *Lactobacillus* se muestran en la tabla 4-2, presentada a continuación:

Tabla 4-2: Características fisicoquímicas de las bebidas probióticas de zanahoria elaboradas con diferentes especies de *Lactobacillus*

Parámetro	<i>Lactobacillus</i>			E. E	Prob.
	<i>Curvatus</i>	<i>Plantarum</i>	<i>Bulgaricus</i> YAU-1432		
	Media	Media	Media		
pH a 20°C	4,33 c	4,82 a	4,42 b	0,01	0,0001
Acidez (% de ácido láctico)	1,30 a	1,14 c	1,24 b	0,01	0,0001
Proteína (%)	3,28 c	3,53 b	3,74 a	0,01	0,0001
Grasa (%)	2,78 a	2,79 a	2,78 a	0,01	0,7828

E.E. Error estándar

Prob. > 0,05 No hay diferencias significativas (ns)

Prob. < 0,01 Hay diferencias altamente significativas (**)

Medias con letras iguales en una misma fila no difieren estadísticamente según la prueba de Tukey.

Realizado por: Vinuesa O., 2023.

4.2.1 pH

En la tabla 4-2 se muestra que el pH de las bebidas probióticas de zanahoria elaboradas con diferentes especies de *Lactobacillus*, presentaron diferencias altamente significativas por efecto de la especie de *Lactobacillus* utilizada, registrándose el mayor pH de 4,82 al utilizar *Lactobacillus plantarum* y un pH más bajo al utilizar *Lactobacillus curvatus* con 4,33, esto pudo deberse posiblemente a la influencia del sustrato. Los valores obtenidos se encuentran dentro de lo que establece la Ley General de Salud en México (NOM-051-SCFI/SSA1, 2010, págs. 1-98) donde se establece que las leches fermentadas deben contener pH que varían de 4,2 a 4,8. Los datos obtenidos además son similares a lo que establece (Martínez, 2018, pág. 25) en su investigación “Efecto de la fermentación de leche con diferentes bacterias lácticas en las características de leches fermentadas” donde registró que el *Lactobacillus. curvatus* produce un descenso de pH de 4,32, el *Lactobacillus bulgaricus* un pH de 4,48 y el *Lactobacillus plantarum* un pH de 4,93.

4.2.2 Acidez (% de ácido láctico)

Como se observa en la tabla 4-2 la bebida probiótica de zanahoria elaborada con *Lactobacillus plantarum* presentó 1,14 % de acidez, considerándose menos ácida que al utilizar *Lactobacillus curvatus* y *Lactobacillus bulgaricus* YAU-1432, que obtuvieron valores de 1,30 % y 1,24 % respectivamente, valores que estadísticamente son diferentes, diferencias que pudieron deberse a la influencia del pH y del sustrato. Estos resultados se encuentran dentro de lo que establece la norma (INEN 13, 1984, págs. 1-7), donde se especifica que el contenido de ácido láctico debe ser de 0,8% a 1,8% en productos lácteos fermentados.

Los datos registrados fueron superiores a los obtenidos por (Martínez, 2018, pág. 25) en su investigación “Efecto de la fermentación de la leche de cabra con diferentes bacterias lácticas en las características de leches fermentadas” donde registró que la leche fermentada a 25°C con *Lactobacillus curvatus*, presentó un contenido de ácido láctico de 0,65%, al utilizar *Lactobacillus bulgaricus* un 0,60% y al utilizar *Lactobacillus plantarum* 0,48%, e inferiores a los que registra (Barrientos, 2011, págs. 25-27) en su investigación sobre las propiedades fisicoquímicas de la leche en procesos fermentativos, que registró 1,7% al utilizar *Lactobacillus bulgaricus* y a (Proaño, 2013, pág. 4) que registró 1,23% de ácido láctico al utilizar *Lactobacillus plantarum* a 40°C en su investigación sobre “Efecto del uso de Probióticos y enzimas en la fermentación ácido-láctica”, estas diferencias pueden deberse a la composición del sustrato y a las temperaturas utilizadas.

4.2.3 Proteína (%)

Como se muestra en la tabla 4-2, las especies de *Lactobacillus* utilizadas variaron estadísticamente el contenido proteico de las bebidas probióticas de zanahoria, registrándose el mayor valor de 3,74% al utilizar *Lactobacillus bulgaricus* YAU-1432, y el menor valor de 3,08% al utilizar *Lactobacillus curvatus*, estas diferencias pudieron deberse a la influencia del sustrato y a la producción de *bacteriocinas* de cada especie de *Lactobacillus*. Los valores obtenidos se encuentran dentro de los parámetros establecidos por la Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 2395, 2011, págs. 1-5) sobre “Leches fermentadas. Requisitos”, donde se establece que el contenido de proteína debe ser mínimo 2,7%, similar a lo establecido por el (CODEX STAN 243, 2022, págs. 2-3) de “Leche y productos lácteos” donde se establece el mismo valor, y similar a lo registrado por (Martínez, 2018, pág. 22) en su investigación “Efecto de la fermentación de leche de cabra con diferentes bacterias lácticas en las características de las leches fermentadas” donde determinó que al utilizar *Lactobacillus curvatus* el contenido proteico fue de 3,39%, con *Lactobacillus bulgaricus* fue de 3,64% y con *Lactobacillus plantarum*, el contenido proteico fue de 3,48.

4.2.4 Grasa (%)

En la tabla 4-2, se identifica que el porcentaje de grasa no presenta diferencias significativas por efecto de las especies de *Lactobacillus* utilizadas, por cuanto los valores registrados al utilizar *Lactobacillus bulgaricus* YAU-1432 y *Lactobacillus curvatus* fueron del 2,78% y al utilizar *Lactobacillus plantarum* el resultado fue de 2,79%, siendo numéricamente mejor el valor 2,78%. Estos resultados se encuentran dentro de los requisitos establecidos por la Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 2395, 2011, p. 3), donde se menciona que el contenido de grasa debe tener mínimo de 2,5%, mientras que el (CODEX STAN 243, 2022, págs. 2-3) establece que estos productos deben contener un porcentaje menor al 10%.

Por otra parte, los valores obtenidos son inferiores a los registrados por (Martínez, 2018, pág. 22) en su investigación “Efecto de la fermentación de leche de cabra con diferentes bacterias lácticas en las características de las leches fermentadas” donde obtuvo valores que llegaron hasta 4,23%, pero se estableció que no existieron diferencias estadísticas en el contenido de grasa por efecto del *Lactobacillus* utilizado. Esta diferencia pudo deberse al tipo de muestra utilizada.

4.3 Carga microbiológica

La carga microbiológica realizada de la bebida de zanahoria elaborada con diferentes especies de *Lactobacillus* presentó los resultados que se muestran en la tabla 4-3:

Tabla 4-3: Carga microbiológica de las bebidas probióticas de zanahoria elaboradas con diferentes especies de *Lactobacillus*

Determinación	<i>Lactobacillus</i>			E. E	Prob.
	<i>Curvatus</i>	<i>Plantarum</i>	<i>Bulgaricus</i> YAU-1432		
Coliformes totales UFC/ml	Ausencia	Ausencia	Ausencia		
E. coli UFC/ml	Ausencia	Ausencia	Ausencia		
Mohos y levaduras UFC/ml	Ausencia	Ausencia	Ausencia		
Bacterias ácido-lácticas UFC/ml	4,65 x 10 ⁷ c	6,73 x 10 ⁷ a	5,28 x 10 ⁷ b	4,20 x 10 ⁵	0,0001

E.E. Error estándar

Prob. < 0,01 Hay diferencias altamente significativas (**)

Realizado por: Vinuesa O., 2023.

De acuerdo con la tabla 4-3, las bebidas probióticas presentaron ausencia total de Coliformes totales, *E. coli*, mohos y levaduras en las bebidas probióticas de zanahoria, lo cual pudo deberse a que las BAL producen metabolitos antimicrobianos como resultado de su fermentación. Estos resultados se encuentran dentro de lo establecido en la norma (INEN 2395, 2011, págs. 1-5), que determina que debe existir ausencia de microorganismos patógenos dentro de estos productos.

Se identificó la presencia de bacterias ácido-lácticas, ocupando el mayor contenido el *Lactobacillus plantarum*, con $6,73 \times 10^7$ UFC/ml, mientras que el menor contenido se obtuvo al utilizar *Lactobacillus curvatus* con $4,65 \times 10^7$ UFC/ml, presentando diferencias altamente significativas por efecto de la especie utilizada, estas diferencias pudieron deberse al efecto del sustrato. Estos valores se encuentran dentro de los parámetros que determina el (CODEX STAN 243, 2022, págs. 2-3) donde se establece que la suma de microorganismos que comprenden el cultivo de toda especie de *Lactobacillus* debe contener 10^7 UFC/ml. Así mismo (Corrales & Arias, 2020, págs. 54-66) en su estudio sobre Los probióticos determinan que un probiótico debe contener de $>10^6$ a 10^8 UFC/ml de células viables, similar al estudio de (García et al., 2018 pág. 110) sobre bebidas lácteas fermentadas con potencial funcional, donde establece que un producto probiótico debe contener de 10^6 a 10^7 UCF/ml.

4.4 Valoración sensorial

La tabla 4-4 muestra la valoración sensorial de la bebida probiótica de zanahoria donde se evaluó el olor, color y sabor.

Tabla 4-4: Características sensoriales de las bebidas probióticas de zanahoria elaboradas con diferentes especies de *Lactobacillus*

Atributo	<i>Lactobacillus</i>						H. cal.	Prob.
	<i>Curvatus</i>		<i>Plantarum</i>		<i>Bulgaricus</i> YAU-1432			
Olor	3	Buena	4	Muy buena	4	Muy buena	89	0,0001
Color	5	Excelente	5	Excelente	5	Excelente	0,2	0,8729
Sabor	3	Buena	5	Excelente	4	Muy buena	145	0,0001

H. cal. valor calculado de la prueba Kruskal-Wallis

Prob. > 0,05 No hay diferencias significativas (ns)

Prob. < 0,01 Hay diferencias altamente significativas (**)

Realizado por: Vinuesa O., 2023.

En la tabla 4-4 se establece que las bebidas probióticas de zanahoria elaboradas con *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus bulgaricus* YAU1432, no presentaron diferencias significativas en nivel de agrado de olor, por efecto de la especie utilizada, obteniendo una valoración de muy buena, a diferencia de cuando se utilizó *Lactobacillus curvatus*, que presentó una valoración de buena. En cuanto al color no existieron diferencias estadísticas, obteniendo todos los tratamientos una valoración de excelente. En sabor las tres bebidas presentaron diferencias significativas, siendo el tratamiento con *Lactobacillus plantarum* la más aceptada y el tratamiento con *Lactobacillus curvatus* la menos aceptada por los catadores, esto pudo deberse a la influencia del contenido de acidez, lo que concuerda con lo que menciona (Lluglla, 2020, págs. 30-36) en su estudio

“Desarrollo de una bebida con doble fermentación” donde determinó que la acidez juega un papel importante en las características sensoriales como olor y sabor de los productos fermentados.

(Parra, 2010, págs. 6-10) en su investigación “Bacterias ácido-lácticas: papel funcional en alimentos” asegura que las BAL influyen positivamente en olor, textura, sabor y aroma de alimentos fermentados ya que producen pequeñas cantidades de acetaldehídos otorgando así sabor y aromas agradables, posiblemente por este motivo ningún tratamiento fue rechazado por los catadores.

El *Lactobacillus bulgaricus* provee un sabor y gusto suave y delicado, por lo cual es ampliamente utilizado en bebidas fermentadas según (Ramírez et al., 2011 págs. 5-6) en su investigación “Bacterias lácticas: Importancia en alimentos”. En cuanto al *Lactobacillus plantarum* (Proaño, 2013, págs. 1-7) en su estudio “Efecto del uso de probióticos y enzimas, en la fermentación ácido-láctica” y (Morais, 2004, pág. 92) en su “Estudio de adecuación de cepas lácticas autóctonas aisladas de la leche cruda”, fue asignado como el mejor tratamiento en atributos de sabor y aceptabilidad en productos alimenticios, a diferencia del *Lactobacillus curvatus* que de acuerdo con los autores aporta un efecto de rancidez en los productos.

4.5 Valoración económica

La valoración económica de las bebidas probióticas de zanahoria elaboradas con diferentes especies de *Lactobacillus* se presenta en la tabla 4-5.

Tabla 4-5: Valoración económica de las bebidas probióticas de zanahoria elaboradas con diferentes especies de *Lactobacillus*

Descripción	Cantidad	Ud.	Precio unitario	Ud.	<i>Lactobacillus</i>		
					<i>Bulgaricus</i>	<i>Plantarum</i>	<i>Curvatus</i>
Costos directos de fabricación							
Leche	1,11	Lt	0,8	Lt	0,06	0,06	0,06
Zanahoria	2,53	Lt	0,22	Lt	0,04	0,04	0,04
Azúcar	112,51	g	1	Kg	0,002	0,002	0,002
Sorbato de potasio	1,5	g	0,01	g	0,001	0,001	0,001
Gelatina	0,19	g	0,03	g	0,0001	0,0001	0,0001
<i>Lactobacillus curvatus</i>	0,25	g	0,57	g	0	0	0,14
<i>Lactobacillus plantarum</i>	0,25	g	0,57	g	0	0,14	0
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	0,25	g	1,13	g	0,28	0	0
YAU-1432							
Total					0,38	0,24	0,24
Costos indirectos de fabricación							
Mano de obra			10	día	0,08	0,08	0,08
Botellas de vidrio	15	Ud.	0,2	Ud.	0,20	0,20	0,20
Gas	0,25	tq	1,8	tq	0,03	0,03	0,03
Agua	3	Lt	0,3	Lt	0,06	0,06	0,06
Total					0,37	0,37	0,37
Costo de producción					0,75	0,61	0,61
Cantidad de producto (ml)					250	250	250
Precio de la bebida probiótica (\$)					0,90	0,90	0,90
Utilidad / 250 ml					0,15	0,29	0,29
Ingresos por cada 250 ml					0,88	0,86	0,86
Beneficio/costo					1,19	1,47	1,47

Realizado por: Vinuesa O., 2023.

Como se establece en la tabla 4-5, cada envase de 250 ml de bebida probiótica de zanahoria tuvo un costo de producción de 0,75 centavos y un beneficio/costo de 1,19 al utilizar *L. bulgaricus* YAU-1432, donde por cada dólar invertido habrá una ganancia de 0,19 centavos, al utilizar *L. plantarum* y *L. curvatus*, el costo de producción fue de 0,61 centavos, obteniendo un beneficio/costo de 1,47, donde por cada dólar invertido la ganancia será de 47 centavos. Determinándose así que las bebidas son rentables al utilizar las diferentes especies de *Lactobacillus*, siendo mejor las bebidas elaboradas con *Lactobacillus* aislados.

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- Al evaluar la cinética de crecimiento de tres bacterias ácido-lácticas (*L. plantarum*, *L. curvatus*, *L. bulgaricus* YAU-1432) en diferentes tiempos (0, 24, 48, 72 horas), se registra el mayor crecimiento del *L. curvatus* ($5,96 \times 10^7$ UFC/ml) y el menor crecimiento del *L. bulgaricus* YAU-1432 ($4,57 \times 10^7$ UFC/ml) durante el proceso.
- Al analizar los parámetros fisicoquímicos, de las bebidas probióticas elaboradas con las bacterias ácido-lácticas, los valores de pH, acidez, proteína y grasa tienen relación con los requisitos establecidos en la norma NTE INEN 2395 y en la Norma Oficial Mexicana NOM-051-SCFI/SSA1. Microbiológicamente se registró presencia de microorganismos probióticos, mayormente en el tratamiento con *L. plantarum* ($6,73 \times 10^7$ UFC/ml), demostrando que el efecto de estas bacterias fue benéfico ya que inhibieron los patógenos como coliformes, *E. coli*, mohos y levaduras. Mientras que sensorialmente la bebida probiótica más aceptada por los catadores fue la realizada con *L. plantarum* obteniendo una valoración de muy buena en olor y excelente en cuanto a color y sabor.
- Se estableció que el mejor costo de producción fue en los tratamientos con *L. curvatus* y *L. plantarum*, con una relación de beneficio/costo de 1,47 donde se indica que por cada dólar invertido existirá una ganancia de cuarenta y siete centavos.

5.2 Recomendaciones

- Elaborar una bebida probiótica utilizando *Lactobacillus plantarum*, debido a que presenta la mayor aceptación por parte de los catadores, las mejores cargas microbianas para ser un producto probiótico y cumple con los requisitos establecidos en características fisicoquímicas.
- Mantener un sistema de conservación para los microorganismos aislados *Lactobacillus curvatus* y *Lactobacillus plantarum*.
- Ampliar la investigación con el desarrollo de nuevos productos probióticos a base del *L. curvatus* y *L. plantarum* aislados.

GLOSARIO

BAL: Bacterias Ácido-Lácticas

ÁCIDO LÁCTICO: Ácido orgánico natural de importancia industrial en aplicaciones farmacéuticas como electrolito y fuente de minerales

BACTERIOCINAS: Las bacteriocinas son péptidos sintetizados por bacterias que presentan un amplio potencial como conservador de alimentos.

PROBIÓTICO: Que contiene bacterias vivas que contribuyen al equilibrio de la flora intestinal y potencian el sistema inmunológico.

UFC: Unidades formadoras de colonias

ESCALA HEDÓNICA: Las escalas hedónicas verbales recogen una lista de términos relacionados con el agrado o no del producto por parte del consumidor.

ANÁLISIS SENSORIAL: es una ciencia multidisciplinaria en la que se utilizan panelistas humanos que utilizan los sentidos de la vista, olfato, gusto, tacto y oído para medir las características sensoriales y la aceptabilidad de los productos alimenticios, y de muchos otros materiales.

CONTEO BACTERIANO: Es una técnica general ampliamente utilizada para estimar el número de microorganismos, se utiliza como un indicador de la población bacteriana en las muestras

CINÉTICA DE CRECIMIENTO: Son los procesos y reacciones de la vida microbiana: reproducción, desarrollo, muerte, adaptación e interacciones ambientales.

BIBLIOGRAFÍA

1. **APONTE GÓMEZ, Andrés Felipe & RUIZ MALPICA, Natalia.** Producción de vino espumoso a partir de residuos de zanahoria. [En línea]. (Trabajo de titulación) (Titulación de grado). Fundación Universidad de América, Ingenierías, Ingeniería Química. Bogotá-Colombia. 2021. pág. 22. [Consulta: 2023-03-12]. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.11839/8654>
2. **BAQUE VEGA, Ariana Paola & ROMERO MARÍN, Katherine Elizabeth.** Evaluación de las bacterias ácido lácticas con capacidad probiótica para la conservación de: banano y papaya hawaiana. [En línea]. (Trabajo de titulación) (Titulación de grado). Universidad de las Fuerzas Armadas, Biotecnología. Santo Domingo-Ecuador. 2021. pág. 31. [Consulta: 2023-05-28]. Disponible en: <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/25892/1/T-ESPESD-003138.pdf>.
3. **BARRIENTOS ANZOLA, Irina Alejandra.** Evaluación preliminar de la actividad metabólica de *Candida guilliermondii* sobre las propiedades fisicoquímicas de la leche y en el proceso de producción de yogurt. [En línea]. (Trabajo de titulación) (Titulación de grado). Pontificia Universidad Javeriana, Ciencias, Microbiología Industrial. Bogotá-Colombia. 2011. págs. 25-27 [Consulta: 2023-05-29]. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8828/tesis774.pdf;jsessionid=21019E6D9E67E2CFEA219EE8A78C5F08?sequence=1>.
4. **BRENNAN, Dan.** *Qué saber sobre el ácido láctico en los alimentos.* [blog]. Ecuador: Nourish, 2021. [Consulta: 20 Junio 2023]. Disponible en: <https://www.webmd.com/diet/what-to-know-about-lactic-acid-food#091e9c5e82194d28-1-2>
5. **CARO VÉLEZ, Carlos Andrés & LEÓN PELÁEZ, Ángela.** “Inhibición del crecimiento de *Aspergillus ochraceus* mediante “panela” fermentada con gránulos de kefir de agua”. *Revista de la Facultad de química Farmacéutica.* [En línea], 2014, (Colombia), vol. 21 (3), pág. 192. [Consulta: 20 mayo 2023]. ISSN 0121-4004. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1698/169833713004.pdf>.
6. **CHELE ANZULES, Joffre Oswaldo & SAONA BORBOR, Ronald Javier.** Evaluación de la viabilidad y capacidad competitiva usando la bacteria probiótica *Lactobacillus*

paracasei en cocultivo con *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* a diferentes concentraciones de inóculo en leche descremada de cabra. [En línea]. (Trabajo de titulación) (Titulación de grado). Universidad de Guayaquil, Ingeniería Química. Guayaquil-Ecuador. 2016. pág. 67. [Consultad: 2023-03-12]. Disponible en: https://biblioteca.semisud.org/opac_css/index.php?lvl=notice_display&id=302395.

7. **CLAPA, Dorota.** *Ácido láctico: propiedades y aplicaciones en alimentación y medicina.* [blog]. España: Foodcom, 2022. [Consulta: 20 septiembre 2023]. Disponible en: <https://foodcom.pl/es/acido-lactico-propiedades-y-aplicaciones-en-alimentacion-y-medicina/>
8. **CODEX STAN 243.** *Norma para leches fermentadas*
9. **CORRALES BENEDETTI, Daniela & ARIAS PALACIOS, Janeth.** “Los probióticos y su uso en el tratamiento de enfermedades”. *Revistas Ciencias Biomédicas*, vol. 9, n° 1, (2020), (Colombia). págs. 54-66.
10. **CRUZ TOBAR, Eduardo; et al.** “Aplicación de abonos orgánicos en la producción de zanahoria (*Daucus carota L.*)”. *Revista de Investigación Talentos* [En línea], 2018, (Ecuador), vol 5 (1). págs. 26-35. [Consulta: 10 marzo 2023]. Disponible en: <https://talentos.ueb.edu.ec/index.php/talentos/article/view/39/59#:~:text=La%20zanahoria%20se%20produce%20en,Ecuador%20de%2028.130%20toneladas%20anuales.>
11. **DUCHI QUINZO, Bryan David.** Microorganismos de uso agroindustrial aislados del suelo de un bosque primario de la Parroquia Pungalá cantón Riobamba. [En línea]. (Trabajo de titulación) (Titulación de grado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ciencias Pecuarias. Riobamba-Ecuador. 2022. pág. 15. [Consulta: 2023-03-12]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/17808/1/27T00553.pdf>
12. **FERNÁNDEZ VILLA, Kelly Johana; et al.** “Caracterización de los metabolitos de bacterias ácido lácticas y efecto inhibitorio de las bacteriocinas en microorganismos patógenos en alimentos: revisión sistemática de la literatura, 2008-2012”. *Revista de Ciencias Básicas* [En línea], 2014, (Colombia), vol 13 (1). pág. 57. [Consulta: 21 mayo 2023]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/biosa/v13n1/v13n1a06.pdf>.

13. **GARCÍA CABALLERO; et al.** “Jocoque: un alimento lácteo fermentado tradicional con potencial funcional”. *Agro productividad* [En línea], 2018, (México), vol. 11 (7). págs. 107-111. [Consulta: 20 marzo 2023]. Disponible en: <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/download/923/784/1713>
14. **GUEL GARCÍA, Paulina; et al.** “Uso de bacterias obtenidas a partir de suero de leche y su uso potencial como probióticos en la industria alimentaria”. *Revista Boliviana de Química* [En línea], 2018, (México), vol. 35 (1), pág. 6. [Consulta: 20 junio 2023]. ISSN 0250-5460. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S0250-54602018000100005&script=sci_arttext
15. **HERRERA ACOSTA, Carlos Daniel.** Capacidad probiótica de levaduras y bacterias ácido lácticas (BAL) recuperadas del proceso de fermentación de cacao con potencial uso industrial. [En línea]. (Trabajo de titulación) (Titulación de grado). Pontificia Universidad Javeriana, Microbiología industrial. Bogotá-Colombia. 2021. pág. 10. [Consulta: 2023-06-12]. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/58283>
16. **HUAPAYA CASTILLO, Carolina Stefany.** Elaboración de una bebida probiótica a partir de la fermentación láctica del almidón hidrolizado de harina de quinua *chenopodium quinoa*. [En línea]. (Trabajo de titulación) (Titulación de grado). Universidad Nacional Agraria la Molina, Ciencias, Biología. Lima-Perú. 2014. págs. 44-55. [Consulta: 2023-03-12]. Disponible en: http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12996/1903/Q02_H832%20-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
17. **IFEMA.** *Bebidas probióticas: ¿qué son y cuáles son los beneficios?* [Blog]. Madrid: 2022. [Consulta: 12 marzo 2023]. Disponible en: <https://www.ifema.es/noticias/alimentacion-bebidas/que-son-las-bebidas-probioticas>
18. **LIU, Yen-Wenn; et al.** “Nuevas perspectivas de *Lactobacillus plantarum* como probiótico: el eje intestino-corazón-cerebro”. *Journal of microbiology* [En línea], 2018, (Taiwán), vol. 56, págs. 601-613. [Consulta: 18 junio 2023]. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s12275-018-8079-2>
19. **LLUGLLA PONOLUISA, Juan Esteban. 2020.** Desarrollo de una bebida a base de harina de caña de maíz (*Zea mays*) y salvado de arroz (*Oryza sativa*) con doble fermentación. [En

línea]. (Trabajo de titulación) (Titulación de grado). Universidad Técnica de Ambato, Alimentos y Biotecnología. Ambato-Ecuador. 2020. págs. 30-36. [Consulta: 2023-05-08]. Disponible en: <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/30800/1/AL%20739.pdf>.

20. **LOBO CHINCHILLA, Ariela.** Evaluación de la sobrevivencia y tolerancia a la temperatura de llenado de *Lactobacillus curvatus* en salsas picantes acidificadas y transferencia de los resultados a productores locales. [En línea]. (Trabajo de titulación) (Titulación de grado). Universidad de Costa Rica, Ciencias Agroalimentarias, Alimentos. Rodrigo Facio-Costa Rica. 2017. págs. 15-16. [Consulta: 2023-05-08]. Disponible en: <http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/handle/123456789/4906>
21. **MARTÍNEZ PERALES, Almudena.** Efecte de la fermentació de llet de cabra amb diferents bacteries láctiques en les característiques de les llet fermentades. [En línea]. (Trabajo de titulación) (Titulación de grado). Universitat Miguel Hernández D'ELX, Tecnología dels Aliments. Elche-España. 2018. págs. 22-25. [Consulta: 2023-05-09] Disponible en: <http://dspace.umh.es/bitstream/11000/5334/1/TFG%20Mart%c3%adnez%20Perales%2c%20Almudena.pdf>.
22. **MIRANDA YUQUILEMA, José; et al.** “Obtaining, characterization and evaluation of two candidate preparations for probiotics developed with agroindustrial waste”. *Revista MVZ Córdoba*. [En línea], 2018, (Colombia) vol. 23 (1), pág. 8. [Consulta: 12 marzo 2023]. ISSN: 0122-0268. Disponible en: <https://revistamvz.unicordoba.edu.co/article/view/1243/pdf>.
23. **MORAIS, Joaquim.** Estudio de adecuación de cepas lácticas autóctonas asiladas de leche cruda de oveja guirra. [En línea]. (Trabajo de titulación) (Doctorado). Universidad Autónoma de Barcelona. Barcelona-España. 2004. pág. 92. [Consulta: 2023-05-12]. Disponible en: <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/5650/jm1de1.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
24. **MOYANO ARÉVALO, Andrea Lizeth.** Diseño de un proceso industrial para la elaboración de yogur en la microempresa lácteos “Ilapeñito”. [En línea]. (Trabajo de titulación) (Titulación de grado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ciencias, Ingeniería Química. Riobamba-Ecuador. 2018. pág. 13. [Consulta: 2023-03-15]. Disponible en: <http://dspace.espech.edu.ec/bitstream/123456789/8667/1/96T00469.pdf>

25. **NANFRA, Sol; et al.** “Producción de ácido láctico por vía biotecnológica”. *UMaza* [En línea], 2021, (Argentina) vol. 1 (1), pág. 2. [Consulta: 22 mayo 2023]. Disponible en: <http://repositorio.umaza.edu.ar/handle/00261/2739>
26. **NOM-051-SCFI/SSA1.** *Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados-Información comercial y sanitaria.*
27. **NTE INEN 12.** *Leche. Determinación del contenido de grasa.*
28. **NTE INEN 13.** *Leche. Determinación de la acidez titulable.*
29. **NTE INEN 1529-10:98.** *Control microbiológico de los alimentos. Mohos y levaduras viables. Recuento en placa por siembra en profundidad.*
30. **NTE INEN 1529-7.** *Control microbiológico de los alimentos. Determinación de microorganismos coliformes. Por la técnica de Recuento de Colonias.*
31. **NTE INEN 1529-8.** *Control microbiológico de los alimentos. Determinación de coliformes fecales y E. coli.*
32. **NTE INEN 16.** *Leche. Determinación de proteínas.*
33. **NTE INEN 1747.** *Hortalizas frescas. Requisitos.*
34. **NTE INEN 2395.** *Leches fermentadas. Requisitos.*
35. **NTE INEN-ISO 4121.** *Análisis sensorial. Directrices para la utilización de escalas de respuestas cuantitativas.*
36. **OLIVERA RODI, Jorge.** Selección de bacterias ácido lácticas (LAB) y adjuntas (NSLAB) autóctonas de leche y queso para el control de *Clostridium spp.* [En línea]. (Trabajo de titulación) (Maestría). Universidad de la República, Tecnología de los alimentos. Montevideo-Uruguay. 2018. págs. 59-104. [Consulta: 2023-03-12]. Disponible en: <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/21466/1/uy24-19245.pdf>.

37. **OLVEIRA FUSTER G & GONZÁLEZ MOLERO I.** “Probiotics and prebiotics in clinical practice”. Scielo [En línea], 2007, (España), vol. 22 (2), pág. 5. [Consulta: 23 marzo 2023]. ISSN 0212-1611. Disponible en: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112007000500005
38. **ORGANISMO INTERNACIONAL REGIONAL DE SANIDAD AGROPECUARIA.** *Guía para uso de cloro en desinfección de frutas y hortalizas de consumo fresco, equipos y superficies en establecimientos.*
39. **OSORIO GUTIÉRREZ, Karina.** Producción de probióticos mediante el cocultivo de *L. plantarum* BAL-03 Y *L. fermentum* BAL-21. [En línea]. (Trabajo de titulación) (Titulación de grado). Instituto tecnológico de Tuxtla Gutiérrez, Ingeniería química y bioquímica, Ingeniería Bioquímica. Chiapas-México. 2018. pág. 22. [Consulta: 2023-06-20]. Disponible en: http://repositoriodigital.tuxtla.tecnm.mx/xmlui/bitstream/handle/123456789/3305/MDRPI_BQ2017041.pdf?sequence=1&isAllowed=y
40. **OSSA, Juliana Andrea; et al.** “Evaluación de la melaza de caña como sustrato para el crecimiento de *Lactobacillus plantarum*”. *Revista U. D. C. A Actualidad & Divulgación Científica* [En línea], 2010, (Colombia) vol. 13 (1), págs. 97-102. [Consulta: 13 marzo 2023]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v13n1/v13n1a11.pdf>.
41. **OSTOS, Olga; et al.** “Aplicaciones biotecnológicas de los microorganismos”. *Nova* [En línea], 2019, (Colombia), vol. 17 (31), págs 9-12. [Consulta: 21 mayo 2023]. ISSN 1794-2470. Disponible en: <https://doi.org/10.22490/24629448.3629>. ISSN 1794-2470
42. **PARRA HUERTAS, Adolfo.** “Bacterias ácido lácticas: papel funcional en los alimentos”. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial: BSAA* [En línea], 2010, (Colombia), vol 8 (1), págs. 6-10 [Consulta: 21 mayo 2023]. ISSN 1692-3561. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6117902>
43. **PEREIRA MALDONADO, Joao Alexander.** Efecto de trasplante de plántulas en parámetros morfoagronómicos del cultivo de zanahoria (*Daucus carota*) en la granja Santa Inés. [En línea]. (Trabajo de titulación) (Titulación de grado). Universidad Técnica de Machala, Ciencias Agropecuarias, Ingeniería Agronómica. Machala-Ecuador. 2021. pág. 16. [Consulta: 2023-05-21]. Disponible en:

<http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/16560/1/TTUACA-2021-IA-DE00026.pdf>

44. **PÉREZ CABREJAS, Dolores & SÁNCHEZ PANIAGUA, Lourdes.** Leches fermentadas: aspectos nutritivos, tecnológicos y probióticos más relevantes. [En línea]. (Trabajo de titulación) (Titulación de grado). Universidad de Zaragoza, Producción animal y Ciencia de los Alimentos. Zaragoza-España. 2023. págs. 2-3. [Consulta: 2023-06-21]. Disponible en: https://www.aragon.es/documents/20127/674325/LECHES_FERMENTADAS.pdf/62a7dc81-fd9d-a459-c789-b312b658f459.
45. **PROAÑO, Janina.** “El efecto del uso de probióticos (*Lactobacillus plantarum* & *Lactobacillus casei*) y enzimas amilasas (*fungamyl*) & pectinasas (AFPL), en la fermentación ácido-láctica de camote (*Ipomoea batatas* L.)”. *Revista Científica* [En línea], 2013, (Ecuador), vol. 6 (2), págs. 1-7. [Consulta: 15 marzo 2023]. Disponible en: <https://revistas.uta.edu.ec/erevista/index.php/dide/article/view/59>.
46. **RAMÍREZ RAMÍREZ, José Carmen; et al.** “Bacterias lácticas: Importancia en alimentos y sus efectos en la salud”. *Revista fuente* [En línea], 2011. (México), vol. 2 (7), págs. 5-6. [Consulta: 16 marzo 2023]. Disponible en: <http://dspace.uan.mx:8080/jspui/handle/123456789/436>
47. **RAMOS MOPOSITA, Samantha Nicole.** Evaluación del efecto de los edulcorantes en el crecimiento de los *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* del yogur. [En línea]. (Trabajo de titulación) (Titulación de grado). Universidad Central del Ecuador, Ciencias Químicas, Química de Alimentos. Quito-Ecuador. 2020. pág. 17. [Consulta: 22 mayo 2023]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/21957>
48. **ROSAMEL, Chantal.** *Las Zanahorias cultivo, cuidado y consejos prácticos*. Irlanda: De Vecchi, 2019. ISBN: 978-1-64461-634-5, págs. 85-90.
49. **SARABIA LÓPEZ, Lenin Daniel.** Efecto del Uso de Bactoferm™ LHP, Bactoferm™ F-RM-52, Bactoferm™ F-LC y Cultivo lácteo SLB 953. [En línea]. (Trabajo de titulación) (Titulación de grado). Universidad Técnica de Ambato, Ingeniería en Alimentos. Ambato-Ecuador. 2011. pág. 151. [Consulta: 07 abril 2023]. Disponible en: <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/3076/1/AL464.pdf>.

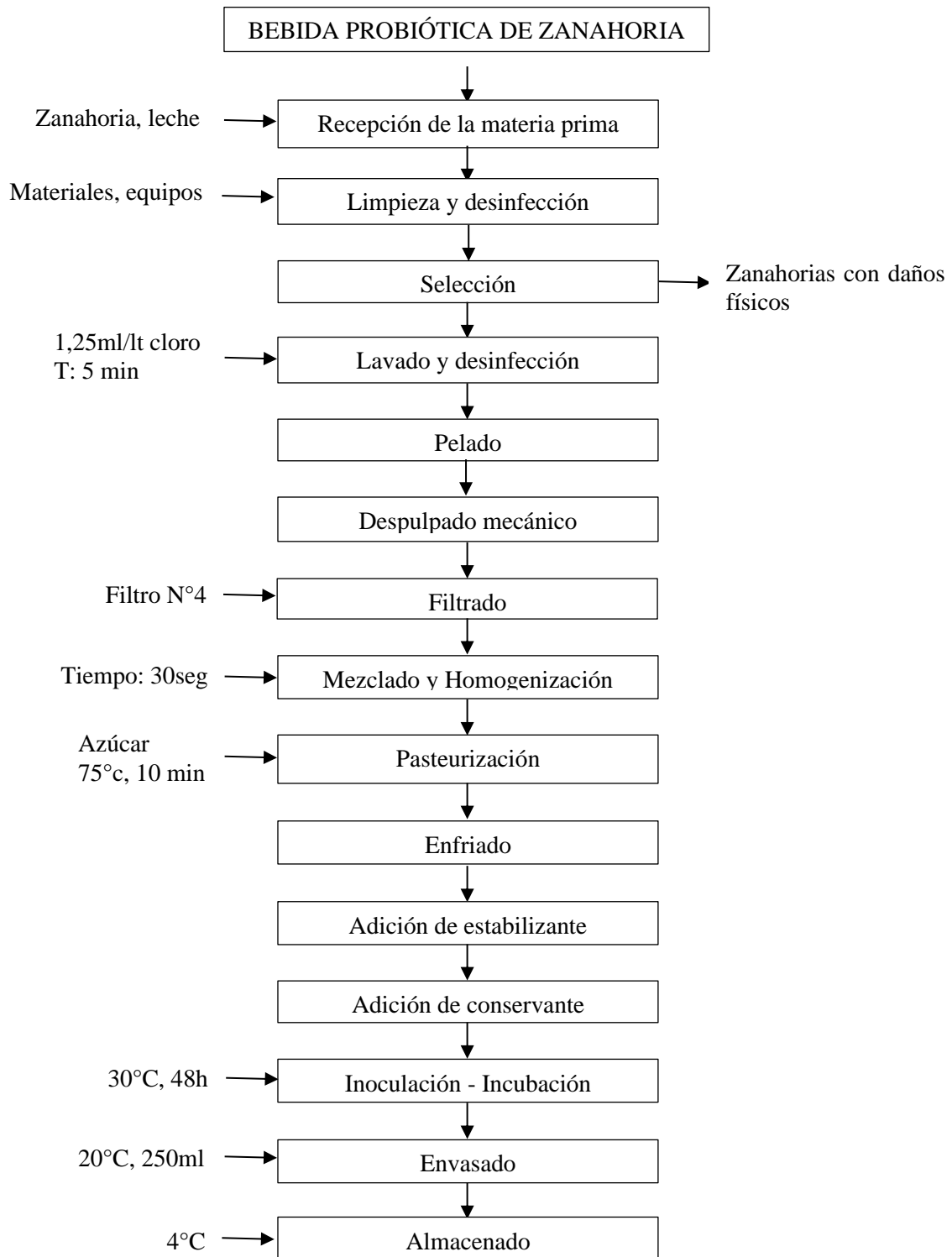
50. **SÁNCHEZ, María Teresa; et al.** “Microorganismos probióticos y salud”. *Ars Pharmaceutica* [En línea], 2015, (España), vol. 56 (1), pág. 4. [Consulta: 15 marzo 2023]. ISSN 2340-9894. Disponible en: <https://scielo.isciii.es/pdf/ars/v56n1/especial2.pdf>.
51. **SUDHA, Ratna.** *Qué es una bebida probiótica.* [blog]. India: Unique Biotech, 2021. [Consulta: 20 junio 2023]. Disponible en: <https://www.uniquebiotech.com/blog/what-is-a-probiotic-drink#:~:text=Probiotic%20drinks%20are%20supplements%20that,said%20to%20provide%20similar%20benefits>.
52. **SUDHANSHU, Behera; et al.** “*Lactobacillus plantarum* con propiedades funcionales: un enfoque para aumentar la seguridad y la vida útil de los alimentos fermentados”. *BioMed Research International* [En línea], 2018, (India), vol. 2018, pág. 2. [Consulta: 15 marzo 2023]. ISSN 9361614. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2018/9361614/>
53. **TERÁN, Lucrecia Cecilia; et al.** “Papel de los agentes curantes en la respuesta adaptativa del bioprotector *Latilactobacillus Curvatus* CRL 705 desde una perspectiva fisiológica y proteómica”. *MDPI* [En línea], 2023, (Argentina), vol. 2 (4), págs. 5-6. [Consulta: 05 Abril 2023]. ISSN 2674-1334. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2674-1334/2/4/11>
54. **THAMIRES, Thayná; et al.** “Bactérias ácido lácticas suas características e importância: revisão” [en línea], 2021, (Brasil), vol 10 (11), págs. 2-3. [Consulta: 12 marzo 2023]. ISSN 2525-3409. Disponible en: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/19964>
55. **TIRADOR, Marta.** Caracterización del contenido de nitratos y la composición nutricional en zanahoria (*Daucus carota* L.) cultivada con diferentes dosis de fertilización NP. [En línea]. (Trabajo de titulación) (Titulación de grado). Universidad Nacional de Cuyo, Ciencias Agrarias, Licenciatura en Bromatología. Mendoza-Argentina. 2011. pág. 33. [Consulta: 2023-03-12]. Disponible en: http://ddhh.bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/4136/tesis-martatirador.pdf.
56. **UNE ISO 7889.** *Enumeración de microorganismos característicos – Técnica de recuento de colonias a 37°C.*

57. **UNE ISO 16068.** *Microbiology of food and animal feeding stuffs-horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria-colony-count technique at 30°C.*
58. **VALVERDE SEMPERE, Victoria.** Inclusión de subproductos de pulpa de cítricos en dietas de cerdos de cebo: rendimientos productivos y estudio de la salud intestinal. [En línea]. (Trabajo de titulación) (Titulación de grado). Universidad Politécnica de Valencia, Biología. Valencia. 2020. pág. 8. [Consulta: 2023-05-28]. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10251/150936>
59. **VÁSQUEZ, Sandra Milena; et al.** “Evaluación de bacteriocinas como medio protector para la biopreservación bajo refrigeración”. *Revista chilena de Nutrición.* [En línea], 2009. (Colombia), vol. 36 (3), pág. 8. . [Consulta: 15 mayo 2023]. ISSN 0717-7518. Disponible en: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182009000300005
60. **VERA MEJÍA, Ronald; et al.** “Obtención de un candidato a probiótico de *Lactobacillus plantarum* 22 LMC a partir de un medio de cultivo natural con materias primas agroindustriales”. *Revista de Salud Animal* [En línea], 2021, (Cuba), vol. 43 (3), págs. 1-9. [Consulta: 13 marzo 2023]. ISSN 2224-4700. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2021000300003.
61. **YANG, En; et al.** “Influencia de los medios de cultivo, pH y temperatura sobre el crecimiento y producción de bacteriocinas de bacterias bacteriocinógenas del ácido láctico”. *AMB expreso* [En línea], 2018, (Canadá), vol. 8 (10), pág. 8. [Consulta: 05 Abril 2023]. ISSN 2936-8243. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0536-0>.
62. **ZÁRATE SARAPURA, Edgar.** Modelamiento de la bioconservación de la hamburguesa de carne por productos orgánicos de bacterias ácido lácticas homofermentativas. [En línea]. (Trabajo de titulación) (Titulación de grado). Universidad Nacional del Callao, Ciencias Naturales y Matemática. Callao-Perú. 2020. págs. 19-22. [Consulta: 2023-03-12]. Disponible en: <http://repositorio.unac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12952/5124/ZARATE%20SARAPURA%20-%20FCNM%20-%202020.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.



ANEXOS

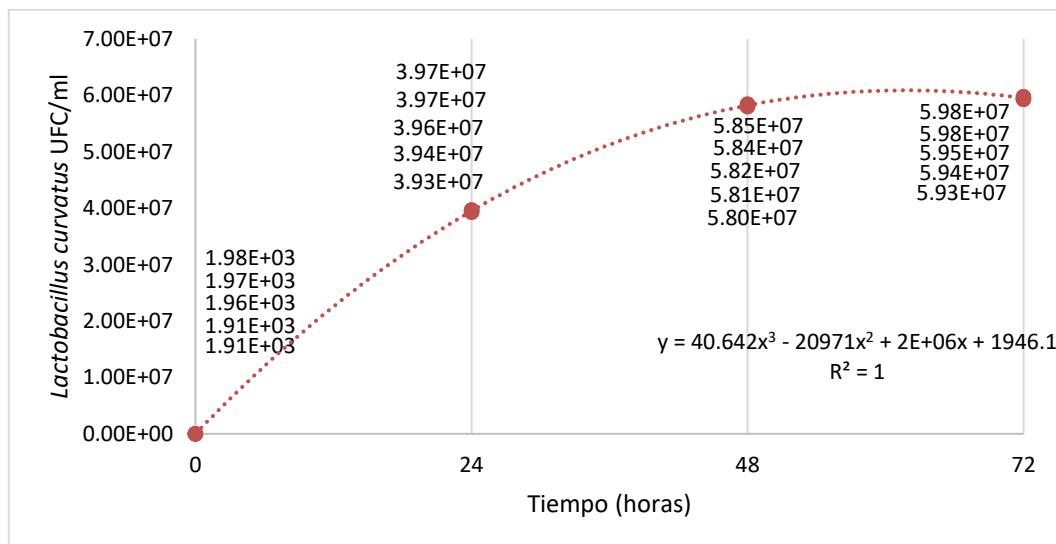
ANEXO A: DIAGRAMA DE ELABORACIÓN DE LA BEBIDA PROBIÓTICA



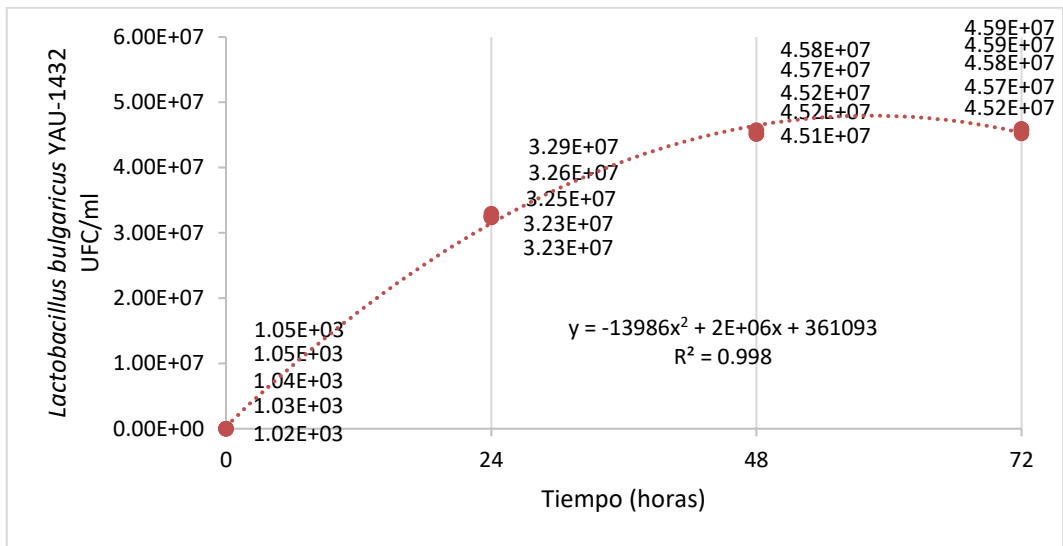
ANEXO B: VALOR NUTRICIONAL DE LA ZANAHORIA POR CADA 100G

Parámetro	Contenido
Agua	86,0 (g)
Carbohidratos	10,70 (g)
Grasas	0,1 (g)
Proteína	0,9 (g)
Fibra	1,2 (g)
Calorías	36 (Kcal)
Cenizas	1,1 (g)
Calcio	80 (mg)
Fósforo	30 (mg)
Hierro	1,5 (mg)
Vitamina A	10500 (U.I)
Tiamina	0,04 (mg)
Riboflavina	0,04 (mg)
Niacina	0,50 (mg)
Ácido ascórbico	3,0 (mg)

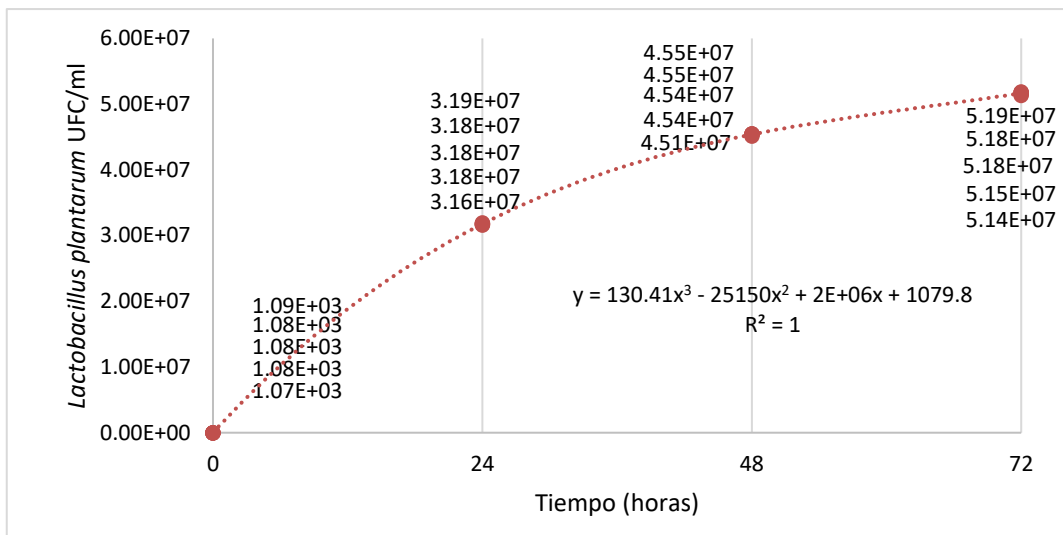
ANEXO C: CINÉTICA DE CRECIMIENTO DE *L. CURVATUS* UFC/ML



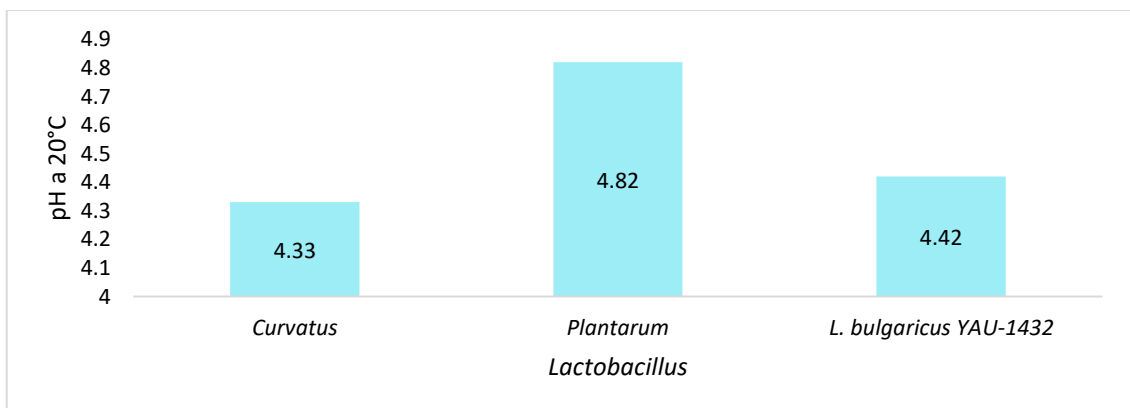
ANEXO D: CINÉTICA DE CRECIMIENTO DE *L. BULGARICUS* YAU-1432 UFC/ML



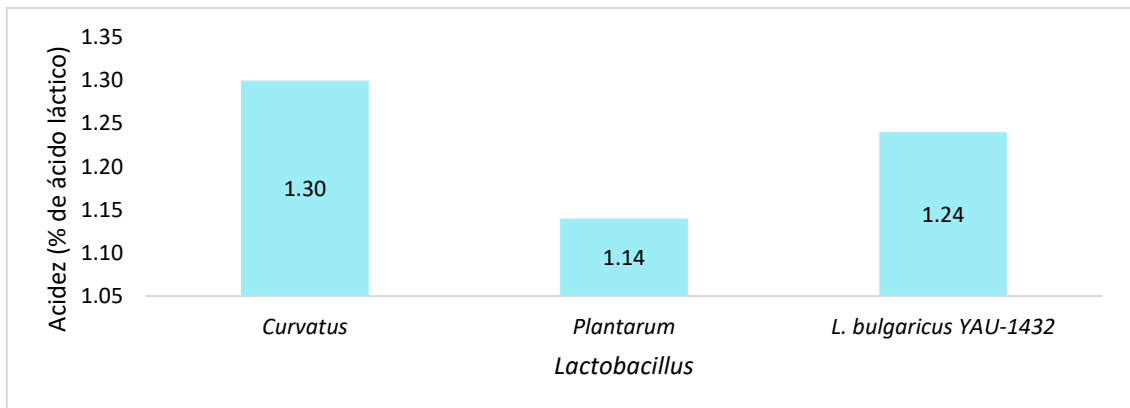
ANEXO E: CINÉTICA DE CRECIMIENTO DE *L. PLANTARUM* UFC/ML



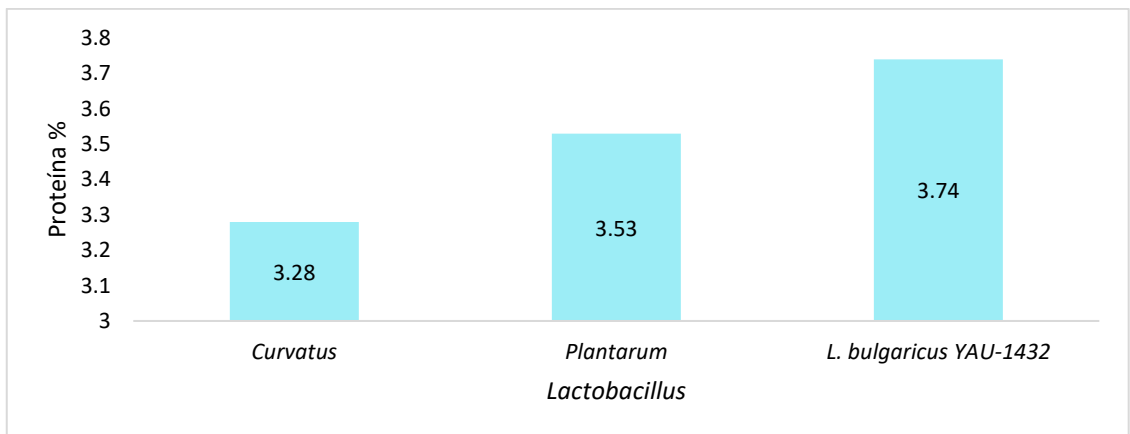
ANEXO F: VALORACIÓN DEL PH DE LAS BEBIDAS PROBIÓTICAS DE ZANAHORIA ELABORADAS CON DIFERENTES ESPECIES DE *LACTOBACILLUS*



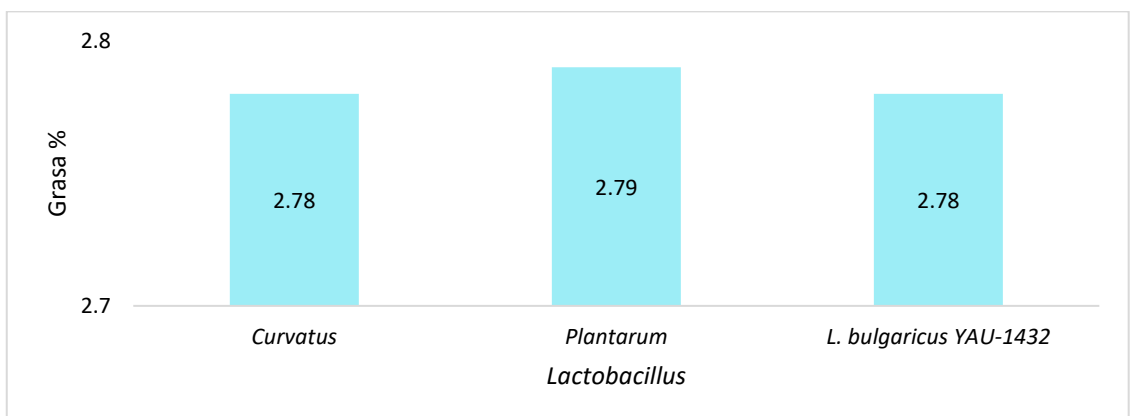
ANEXO G: VALORACIÓN DE LA ACIDEZ (% DE ÁCIDO LÁCTICO) DE LAS BEBIDAS PROBIÓTICAS DE ZANAHORIA ELABORADAS CON DIFERENTES ESPECIES DE *LACTOBACILLUS*



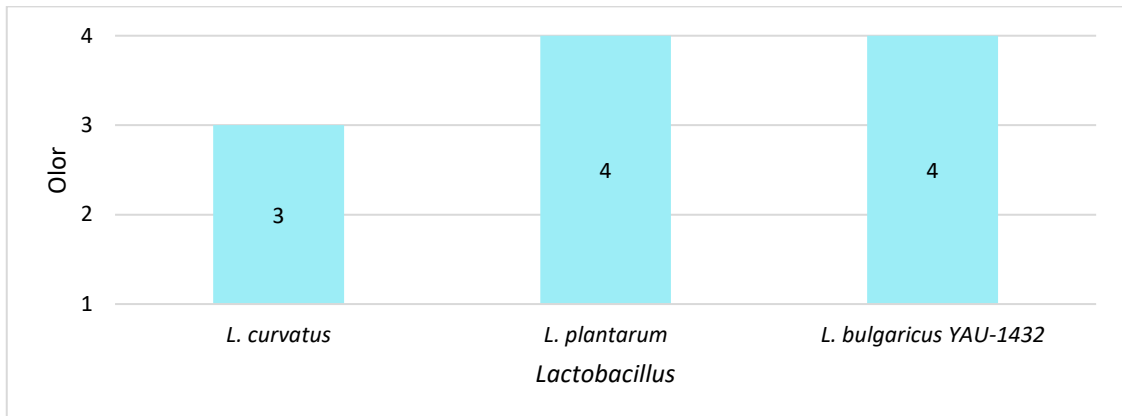
ANEXO H: VALORACIÓN DEL % DE PROTEÍNA DE LAS BEBIDAS PROBIÓTICAS DE ZANAHORIA ELABORADAS CON DIFERENTES ESPECIES DE *LACTOBACILLUS*



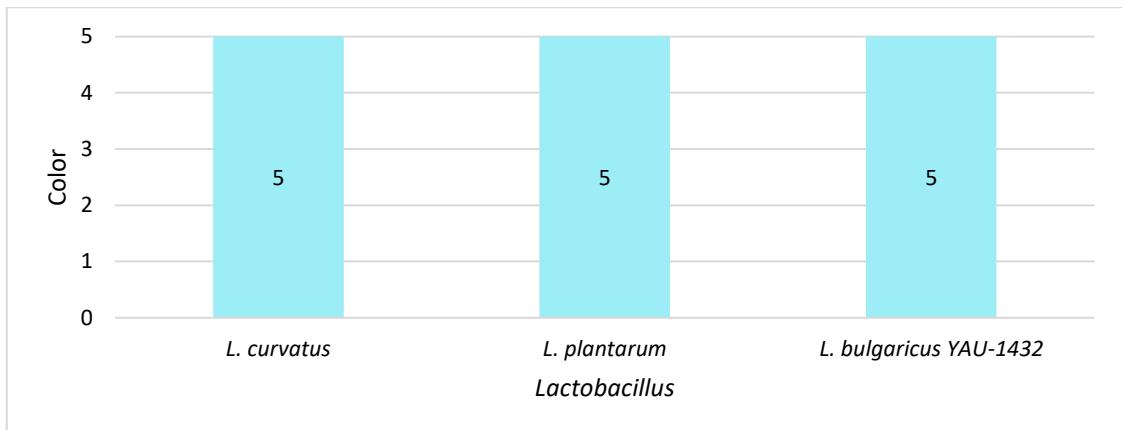
ANEXO I: VALORACIÓN DE LA GRASA EXPRESADA EN % DE LAS BEBIDAS PROBIÓTICAS DE ZANAHORIA ELABORADAS CON DIFERENTES ESPECIES DE *LACTOBACILLUS*



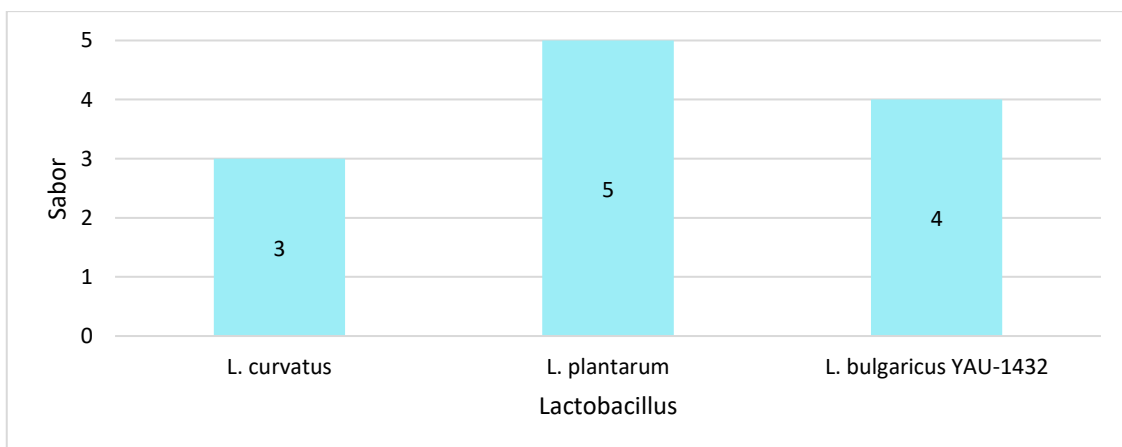
ANEXO J: NIVEL DE AGRADO DE OLOR DE LAS BEBIDAS PROBIÓTICAS DE ZANAHORIA ELABORADAS CON DIFERENTES ESPECIES DE *LACTOBACILLUS*



ANEXO K: NIVEL DE AGRADO DE COLOR DE LAS BEBIDAS PROBIÓTICAS DE ZANAHORIA ELABORADAS CON DIFERENTES ESPECIES DE *LACTOBACILLUS*



ANEXO L: NIVEL DE AGRADO DE SABOR DE LAS BEBIDAS PROBIÓTICAS DE ZANAHORIA ELABORADAS CON DIFERENTES ESPECIES DE *LACTOBACILLUS*



ANEXO M: REPORTE DE RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE ZANAHORIA

Tratamiento	Rep.	Cód.	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO			
			Escherichia coli (UFC/ml)	Coliformes totales (UFC/ml)	Mohos y levaduras	Bacterias Probióticas
<i>L. bulgaricus</i> YAU-1432	1	T1	Ausencia	Ausencia	Ausencia	5,37x10 ⁷
<i>L. bulgaricus</i> YAU-1432	2	T1	Ausencia	Ausencia	Ausencia	5,24x10 ⁷
<i>L. bulgaricus</i> YAU-1432	3	T1	Ausencia	Ausencia	Ausencia	5,35x10 ⁷
<i>L. bulgaricus</i> YAU-1432	4	T1	Ausencia	Ausencia	Ausencia	5,20x10 ⁷
<i>L. bulgaricus</i> YAU-1432	5	T1	Ausencia	Ausencia	Ausencia	5,22x10 ⁷
<i>L. platarum</i>	1	T2	Ausencia	Ausencia	Ausencia	6,65x10 ⁷
<i>L. platarum</i>	2	T2	Ausencia	Ausencia	Ausencia	6,70x10 ⁷
<i>L. platarum</i>	3	T2	Ausencia	Ausencia	Ausencia	6,67x10 ⁷
<i>L. platarum</i>	4	T2	Ausencia	Ausencia	Ausencia	6,85x10 ⁷
<i>L. platarum</i>	5	T2	Ausencia	Ausencia	Ausencia	6,78x10 ⁷
<i>L. curvatus</i>	1	T3	Ausencia	Ausencia	Ausencia	4,55x10 ⁷
<i>L. curvatus</i>	2	T3	Ausencia	Ausencia	Ausencia	4,59x10 ⁷
<i>L. curvatus</i>	3	T3	Ausencia	Ausencia	Ausencia	4,79x10 ⁷
<i>L. curvatus</i>	4	T3	Ausencia	Ausencia	Ausencia	4,77x10 ⁷
<i>L. curvatus</i>	5	T3	Ausencia	Ausencia	Ausencia	4,57x10 ⁷

ANEXO N: REPORTE DE RESULTADOS DE CINETICA DE CRECIMIENTO DE LACTOBACILLUS

Tratamiento	Rep.	Cód.	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO			
			0 horas	24 horas	48 horas	72 horas
<i>L. bulgaricus</i> YAU-1432	1	T1	1,05x10 ³	3,29x10 ⁷	4,58x10 ⁷	4,57x10 ⁷
<i>L. bulgaricus</i> YAU-1432	2	T1	1,02x10 ³	3,26x10 ⁷	4,52x10 ⁷	4,52x10 ⁷
<i>L. bulgaricus</i> YAU-1432	3	T1	1,04x10 ³	3,23x10 ⁷	4,57x10 ⁷	4,59x10 ⁷
<i>L. bulgaricus</i> YAU-1432	4	T1	1,05x10 ³	3,23x10 ⁷	4,52x10 ⁷	4,59x10 ⁷
<i>L. bulgaricus</i> YAU-1432	5	T1	1,03x10 ³	3,25x10 ⁷	4,51x10 ⁷	4,58x10 ⁷
<i>L. platarum</i>	1	T2	1,08x10 ³	3,19x10 ⁷	4,54x10 ⁷	5,15x10 ⁷
<i>L. platarum</i>	2	T2	1,08x10 ³	3,16x10 ⁷	4,51x10 ⁷	5,18x10 ⁷
<i>L. platarum</i>	3	T2	1,07x10 ³	3,18x10 ⁷	4,55x10 ⁷	5,19x10 ⁷
<i>L. platarum</i>	4	T2	1,09x10 ³	3,18x10 ⁷	4,55x10 ⁷	5,14x10 ⁷
<i>L. platarum</i>	5	T2	1,08x10 ³	3,18x10 ⁷	4,54x10 ⁷	5,18x10 ⁷
<i>L. curvatus</i>	1	T3	1,91x10 ³	3,97x10 ⁷	5,80x10 ⁷	5,98x10 ⁷
<i>L. curvatus</i>	2	T3	1,98x10 ³	3,94x10 ⁷	5,84x10 ⁷	5,94x10 ⁷
<i>L. curvatus</i>	3	T3	1,97x10 ³	3,97x10 ⁷	5,85x10 ⁷	5,95x10 ⁷
<i>L. curvatus</i>	4	T3	1,96x10 ³	3,93x10 ⁷	5,82x10 ⁷	5,98x10 ⁷
<i>L. curvatus</i>	5	T3	1,91x10 ³	3,96x10 ⁷	5,81x10 ⁷	5,93x10 ⁷

ANEXO Ñ: REPORTE DE RESULTADOS FISICOQUÍMICOS DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE ZANAHORIA

Tratamiento	Rep.	Cód.	ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO			
			pH	Proteína	Acidez (% de ácido láctico)	Grasa (%)
<i>L. bulgaricus</i> YAU-1432	1	T1	4,40	3.771	1,242	2,80
<i>L. bulgaricus</i> YAU-1432	2	T1	4,45	3.736	1,250	2,80
<i>L. bulgaricus</i> YAU-1432	3	T1	4,40	3.732	1,224	2,75
<i>L. bulgaricus</i> YAU-1432	4	T1	4,42	3.714	1,251	2,75
<i>L. bulgaricus</i> YAU-1432	5	T1	4,45	3.759	1,229	2,80
<i>L. platarum</i>	1	T2	4,83	3.573	1,106	2,80
<i>L. platarum</i>	2	T2	4,81	3.514	1,199	2,80
<i>L. platarum</i>	3	T2	4,80	3.538	1,196	2,80
<i>L. platarum</i>	4	T2	4,85	3.515	1,101	2,80
<i>L. platarum</i>	5	T2	4,80	3.509	1,103	2,75
<i>L. curvatus</i>	1	T3	4,34	3.292	1,296	2,80
<i>L. curvatus</i>	2	T3	4,35	3.271	1,288	2,80
<i>L. curvatus</i>	3	T3	4,30	3.254	1,304	2,75
<i>L. curvatus</i>	4	T3	4,34	3.297	1,289	2,80
<i>L. curvatus</i>	5	T3	4,31	3.285	1,301	2,75

ANEXO O: FICHA DE LA PRUEBA DE AFECTIVIDAD EN ESCALA HEDÓNICA DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE ZANAHORIA



"ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO"
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA DE AGROINDUSTRIA



FICHA DE EVALUACIÓN SENSORIAL

"ELABORACIÓN DE BEBIDAS PROBIÓTICAS DE ZANAHORIA, UTILIZANDO BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS AISLADAS DEL BOSQUE PRIMARIO-PUNGALÁ"

DATOS:

Fecha: _____

MUESTRA: Bebida probiótica de zanahoria con utilización de bacterias ácido-lácticas.

INSTRUCCIONES

A continuación, se le presenta a usted 3 muestras de Bebida probiótica de zanahoria. Por favor inicie la degustación, seleccione el nivel de agrado en base a la escala mostrada y coloque el puntaje que usted considere adecuado para evaluar los atributos de cada muestra.

Nota: Para limpiar el paladar entre muestra y muestra enjuagar el paladar con agua.

PUNTAJE	NIVEL DE AGRADO
5	Excelente
4	Muy buena
3	Buena
2	Regular
1	Mala

CARACTERÍSTICAS A EVALUAR	MUESTRAS		
	141	282	343
Olor			
Color			
Sabor			

GRACIAS POR SU PARTICIPACIÓN

ANEXO P: RESULTADOS REGISTRADOS DE LA VALORACIÓN SENSORIAL DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE ZANAHORIA

OLOR			
Nº	T1 (L. <i>curvatus</i>)	T2 (L. <i>plantarum</i>)	T3 (L. <i>bulgaricus</i> YAU-1432)
1	3	4	4
2	3	4	3
3	2	5	4
4	3	4	4
5	4	5	3
6	2	3	4
7	2	4	4
8	2	4	5
9	3	4	4
10	3	4	4
11	4	4	4
12	3	3	4
13	3	5	4
14	2	5	3
15	2	5	3
16	2	5	4
17	4	3	3
18	1	3	4
19	3	4	5
20	3	4	4
21	3	4	4
22	2	3	3
23	3	3	3
24	2	4	2
25	3	4	3
26	4	5	4
27	1	3	4
28	4	4	3
29	2	3	5
30	2	5	5
31	1	4	3
32	1	3	2
33	4	5	4
34	2	3	4
35	3	5	4
36	3	4	2

COLOR			
Nº	T1 (L. <i>curvatus</i>)	T2 (L. <i>plantarum</i>)	T3 (L. <i>bulgaricus</i> YAU-1432)
1	5	5	5
2	5	5	5
3	5	5	5
4	5	5	5
5	4	3	2
6	5	5	5
7	4	4	4
8	4	5	4
9	4	4	4
10	4	4	4
11	4	4	4
12	3	5	4
13	5	5	5
14	5	5	5
15	3	5	4
16	5	5	5
17	4	3	4
18	4	5	4
19	4	4	5
20	5	5	5
21	4	4	4
22	5	5	5
23	4	4	4
24	5	5	5
25	4	4	3
26	5	5	5
27	5	5	5
28	5	5	5
29	5	5	5
30	5	5	5
31	5	5	5
32	5	5	5
33	3	4	5
34	3	4	5
35	5	5	5
36	5	5	5

SABOR			
Nº	T1 (L. <i>curvatus</i>)	T2 (L. <i>plantarum</i>)	T3 (L. <i>bulgaricus</i> YAU-1432)
1	3	5	4
2	1	5	4
3	3	2	3
4	2	4	2
5	4	5	4
6	1	4	4
7	1	5	4
8	3	5	5
9	3	3	4
10	2	5	3
11	4	5	4
12	3	3	4
13	2	4	3
14	2	5	4
15	4	4	4
16	2	5	4
17	3	5	4
18	1	4	4
19	5	5	5
20	4	4	4
21	4	5	3
22	4	5	4
23	3	4	3
24	2	5	4
25	4	3	2
26	1	5	4
27	1	5	3
28	3	5	5
29	2	5	4
30	2	5	4
31	5	5	5
32	4	5	4
33	5	4	2
34	5	5	5
35	3	5	3
36	5	5	5

37	1	3	4
38	4	3	4
39	3	4	2
40	5	5	1
41	2	5	5
42	1	5	4
43	1	4	5
44	5	5	5
45	2	4	3
46	2	4	3
47	2	4	4
48	4	3	5
49	3	4	3
50	2	4	4
51	5	5	5
52	1	3	3
53	3	4	4
54	1	3	3
55	3	5	4
56	2	5	4
57	2	5	5
58	4	5	5
59	3	4	4
60	3	3	3
61	4	5	4
62	2	4	5
63	2	4	4
64	4	4	5
65	2	3	2
66	3	4	2
67	3	4	3
68	3	4	5
69	2	3	5
70	3	4	5
71	4	4	4
72	4	5	4
73	3	3	5
74	4	4	4
75	1	3	3
76	5	4	3
77	4	5	4
78	3	4	4
79	3	4	3
80	2	3	4

37	5	5	5
38	4	4	4
39	4	4	4
40	5	5	5
41	3	4	4
42	5	5	5
43	5	5	4
44	5	4	4
45	4	3	4
46	4	3	4
47	3	3	3
48	3	3	4
49	4	5	3
50	5	5	5
51	5	5	5
52	4	3	4
53	3	4	3
54	5	5	5
55	5	5	5
56	5	5	5
57	5	5	5
58	5	5	5
59	5	5	5
60	5	5	5
61	5	5	5
62	5	5	5
63	4	3	4
64	4	4	5
65	5	5	5
66	3	4	3
67	5	5	5
68	5	5	5
69	3	4	4
70	5	4	3
71	4	3	4
72	5	5	5
73	5	5	5
74	4	3	4
75	5	5	5
76	5	3	3
77	5	5	5
78	5	5	5
79	5	5	5
80	5	5	5

37	3	5	4
38	3	5	4
39	3	5	3
40	5	5	5
41	4	4	4
42	1	4	1
43	1	5	5
44	4	5	4
45	2	5	2
46	2	4	3
47	1	4	4
48	5	5	5
49	2	4	4
50	2	5	3
51	3	5	5
52	2	4	4
53	3	5	4
54	5	5	5
55	2	3	3
56	2	5	5
57	3	5	3
58	3	5	5
59	3	3	4
60	3	4	5
61	2	4	4
62	2	5	5
63	4	3	3
64	4	4	5
65	2	5	4
66	4	5	4
67	1	5	3
68	1	4	4
69	3	4	5
70	2	5	4
71	3	4	4
72	5	5	4
73	4	5	5
74	3	5	5
75	1	5	5
76	4	5	4
77	5	5	4
78	3	5	5
79	1	4	4
80	3	5	5

81	3	4	4
82	4	4	3
83	2	3	4
84	2	3	4
85	2	3	5
86	3	3	3
87	3	4	4
88	4	4	4
89	3	3	4
90	3	5	4
91	2	5	3
92	2	5	3
93	2	5	3
94	4	3	3
95	1	3	4
96	3	4	5
97	3	4	4
98	3	3	4
99	2	3	3
100	3	3	3
101	2	4	2
102	3	4	3
103	4	4	4
104	1	3	4
105	4	4	3
106	2	3	5
107	2	3	5
108	1	2	3
109	1	4	3
110	4	5	4
111	2	3	4
112	3	3	4
113	3	4	2
114	1	3	4
115	4	3	4
116	3	3	2
117	5	4	2
118	2	4	5
119	2	3	4
120	1	4	5
121	5	5	5
122	2	4	3
123	2	4	3
124	2	4	4

81	4	4	4
82	5	5	5
83	4	4	4
84	5	5	5
85	5	5	5
86	5	5	5
87	5	5	5
88	5	5	5
89	3	4	4
90	5	5	5
91	4	4	4
92	3	5	4
93	5	5	5
94	4	3	4
95	5	5	5
96	4	4	5
97	4	3	4
98	5	5	5
99	5	5	5
100	5	5	5
101	5	5	5
102	5	5	5
103	5	5	5
104	5	5	5
105	5	5	5
106	5	5	5
107	5	5	5
108	5	5	5
109	4	4	4
110	3	4	5
111	3	4	5
112	4	4	5
113	5	5	5
114	5	5	5
115	4	4	4
116	4	4	4
117	4	3	3
118	3	4	4
119	5	5	5
120	4	3	4
121	5	4	4
122	5	5	5
123	5	5	5
124	5	5	5

81	2	5	5
82	4	5	5
83	1	5	4
84	1	5	4
85	3	5	5
86	3	4	4
87	2	4	2
88	4	5	4
89	3	5	4
90	2	4	3
91	2	4	2
92	4	4	4
93	2	4	4
94	3	4	4
95	1	4	3
96	5	5	5
97	4	5	5
98	4	5	5
99	4	3	4
100	3	4	3
101	2	5	4
102	4	3	2
103	1	5	4
104	1	4	3
105	3	5	5
106	2	5	5
107	2	5	2
108	1	5	3
109	4	5	4
110	5	3	4
111	3	5	4
112	3	5	4
113	2	3	5
114	3	2	3
115	3	4	4
116	3	4	3
117	1	3	4
118	4	4	4
119	1	5	4
120	1	4	5
121	4	5	4
122	2	4	4
123	2	5	5
124	1	4	4

125	4	3	5	125	5	5	5	125	5	5	5
126	3	2	3	126	5	5	5	126	2	5	4
127	2	4	4	127	4	5	5	127	2	5	3
128	5	5	5	128	5	5	5	128	3	4	5
129	5	4	3	129	5	3	3	129	4	5	4
130	3	4	4	130	3	4	3	130	3	4	3
131	4	5	4	131	5	5	5	131	5	5	4
132	3	3	4	132	5	5	5	132	2	4	3
133	2	3	4	133	5	5	5	133	2	5	5
134	2	5	5	134	5	5	5	134	3	5	3
135	4	5	5	135	5	5	5	135	3	5	5
136	3	4	4	136	5	5	5	136	3	5	4
137	3	3	3	137	5	5	5	137	3	5	5
138	4	5	4	138	5	5	5	138	2	5	4
139	3	3	5	139	5	5	5	139	2	5	4
140	2	3	4	140	5	5	5	140	4	5	3
141	4	5	5	141	4	4	5	141	4	5	5
142	2	3	2	142	4	4	4	142	2	5	4
143	3	4	2	143	3	4	3	143	4	5	4
144	3	4	3	144	5	5	5	144	3	5	3
145	3	4	5	145	5	5	5	145	1	5	4
146	2	5	5	146	3	4	4	146	3	4	5
147	3	3	5	147	5	4	3	147	2	5	4
148	4	4	4	148	5	5	5	148	3	5	4
149	4	5	4	149	5	5	5	149	5	5	4
150	3	5	5	150	4	4	4	150	4	4	5

ANEXO Q: ANÁLISIS DE VARIANZA DEL OLOR, COLOR Y SABOR DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE ZANAHORIA

Prueba de Kruskal Wallis

Variable	Tratamiento	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Olor	L. curvatus	150	2,78	1,05	3	89,47	<0,0001
Olor	L. plantarum	150	3,90	0,78	4		
Olor	L. bulgaricus	150	3,79	0,91	4		

Variable	Tratamiento	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Color	L. curvatus	150	4,51	0,70	5	0,20	0,8729
Color	L. plantarum	150	4,53	0,68	5		
Color	L. bulgaricus	150	4,55	0,67	5		

Variable	Tratamiento	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Sabor	L. curvatus	150	2,83	1,21	3	145,02	<0,0001
Sabor	L. plantarum	150	4,53	0,69	5		
Sabor	L. bulgaricus	150	3,97	0,85	4		

ANEXO R: ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA CINÉTICA DE CRECIMIENTO DE TRES ESPECIES DE *LACTOBACILLUS*

0

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
0	15	1,00	1,00	1,57

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2626973,33	2	1313486,67	2918,86	<0,0001
ESPECIE	2626973,33	2	1313486,67	2918,86	<0,0001
Error	5400,00	12	450,00		
Total	2632373,33	14	.		

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=35,79315

Error: 450,0000 gl: 12

ESPECIE	Medias	n	E.E.		
Lactobacillus curvatus	1946,00	5	9,49	A	
Lactobacillus bulgaricus Y...	1080,00	5	9,49		B
Lactobacillus plantarum	1038,00	5	9,49		C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

24

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
24	15	1,00	1,00	0,55

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	183409333333333,00	2	91704666666666,70	2571,16	<0,0001
ESPECIE	183409333333333,00	2	91704666666666,70	2571,16	<0,0001
Error	42799999999,98	12	3566666666,66		
Total	183837333333333,00	14			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=318658,04491

Error: 3566666666,6649 gl: 12

ESPECIE	Medias	n	E.E.		
Lactobacillus curvatus	39540000,00	5	84459,06	A	
Lactobacillus plantarum	32520000,00	5	84459,06		B
Lactobacillus bulgaricus Y...	31780000,00	5	84459,06		C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

48

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
48	15	1,00	1,00	0,49

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	55040933333333,00	2	275204666666667,00	4717,79	<0,0001
ESPECIE	55040933333333,00	2	275204666666667,00	4717,79	<0,0001
Error	69999999999,98	12	5833333333,33		
Total	55110933333333,00	14			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=407522,90432**Error:** 5833333333,3316 gl: 12

ESPECIE	Medias	n	E.E.		
Lactobacillus curvatus	58240000,00	5	108012,34	A	
Lactobacillus plantarum	45400000,00	5	108012,34		B
Lactobacillus bulgaricus Y...	45380000,00	5	108012,34		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

72

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
72	15	1,00	1,00	0,47

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	48325733333333,00	2	241628666666667,00	3918,30	<0,0001
ESPECIE	48325733333333,00	2	241628666666667,00	3918,30	<0,0001
Error	74000000000,04	12	6166666666,67		
Total	48399733333333,00	14			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=419004,66923**Error:** 6166666666,6701 gl: 12

ESPECIE	Medias	n	E.E.		
Lactobacillus curvatus	59560000,00	5	111055,54	A	
Lactobacillus plantarum	51680000,00	5	111055,54		B
Lactobacillus bulgaricus Y..	45700000,00	5	111055,54		C

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)***ANEXO S: ANÁLISIS DE VARIANZA DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE ZANAHORIA**

PH

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
PH	15	0,99	0,99	0,51

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,67	2	0,34	644,19	<0,0001
TRATAMIENTOS	0,67	2	0,34	644,19	<0,0001
Error	0,01	12	5,2E-04		
Total	0,68	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,03860

Error: 0,0005 gl: 12

ESPECIE	Medias	n	E.E.		
L. plantarum	4,82	5	0,01	A	
L. bulgaricus YAU-1432	4,42	5	0,01		B
L. curvatus	4,33	5	0,01		C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

ACIDEZ (% DE ÁCIDO LÁCTICO)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
ACIDEZ	15	0,84	0,82	2,52

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,06	2	0,03	32,05	<0,0001
TRATAMIENTOS	0,06	2	0,03	32,05	<0,0001
Error	0,01	12	9,5E-04		
Total	0,07	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,05214

Error: 0,0010 gl: 12

ESPECIE	Medias	n	E.E.		
L. curvatus	1,30	5	0,01	A	
L. bulgaricus YAU-1432	1,24	5	0,01		B
L. plantarum	1,14	5	0,01		C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

GRASA %

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
GRASA %	15	0,04	0,00	0,93

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3,3E-04	2	1,7E-04	0,25	0,7828
TRATAMIENTOS	3,3E-04	2	1,7E-04	0,25	0,7828
Error	0,01	12	6,7E-04		
Total	0,01	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,04357

Error: 0,0007 gl: 12

ESPECIE	Medias	n	E.E.	
L. plantarum	2,79	5	0,01	A
L. curvatus	2,78	5	0,01	A
L. bulgaricus YAU-1432	2,78	5	0,01	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

PROTEÍNA %

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
PROTEÍNA %	15	0,99	0,99	0,64

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,54	2	0,27	527,48	<0,0001
TRATAMIENTOS	0,54	2	0,27	527,48	<0,0001
Error	0,01	12	5,1E-04		
Total	0,54	14			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,03804

Error: 0,0005 gl: 12

ESPECIE	Medias	n	E.E.		
L. bulgaricus YAU-1432	3,74	5	0,01	A	
L. plantarum	3,53	5	0,01		B
L. curvatus	3,28	5	0,01		C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

ANEXO T: ANÁLISIS DE VARIANZA DE LAS CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE ZANAHORIA

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
BAL UFC/ML	15	0,99	0,99	1,69

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1135129333333330,00	2	567564666666667,00	641,07	<0,0001
ESPECIE	1135129333333330,00	2	567564666666667,00	641,07	<0,0001
Error	1062399999999,40	12	88533333333,28		
Total	114575333333330,00	14			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1587621,72718

Error: 8853333333,2817 gl: 12

ESPECIE	Medias	n	E.E.		
Lactobacillus plantarum	67300000,00	5	420792,90	A	
Lactobacillus bulgaricus Y..	52760000,00	5	420792,90		B
Lactobacillus curvatus	46540000,00	5	420792,90		C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

ANEXO U: ELABORACIÓN DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE ZANAHORIA



Extracción de pulpa



Residuos



Pesaje de azúcar



Pesaje de gelatina



Pesaje de sorbato de potasio



Pasteurización



Inoculación de bacterias BAL



Incubado



Materia prima

ANEXO V: ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE ZANAHORIA

Determinación del contenido proteico



Digestión



Destilación



Titulación

Determinación del contenido de grasa



Centrífuga



Baño de agua a 65 °C



Lectura de datos

Determinación de pH y acidez



Determinación de pH

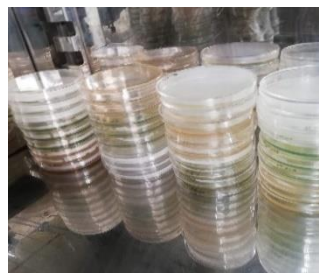


Titulación para determinación de acidez

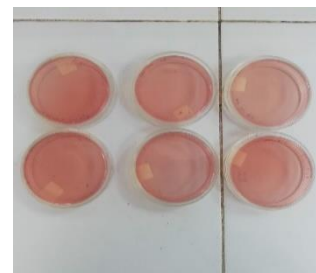
ANEXO W: ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE ZANAHORIA



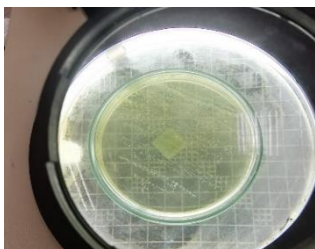
Siembra de microorganismos



Incubación



Ausencia de patógenos

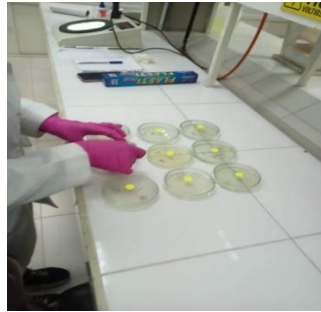


Conteo de probióticos

ANEXO X: ANÁLISIS DE LA CINÉTICA DE CRECIMIENTO DE *Lactobacillus*



Preparación de caldos de cultivo y diluciones



Siembra de *Lactobacillus*



Incubación



Conteo de *Lactobacillus*



Caja Petri con *Lactobacillus*



Caja Petri con *Lactobacillus*

ANEXO Y: ANÁLISIS SENSORIAL DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE ZANAHORIA



Preparación de las muestras



Indicaciones

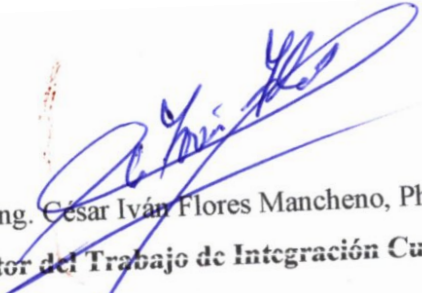
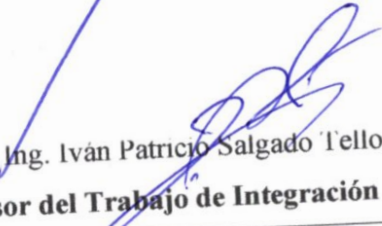


Catación



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
CERTIFICADO DE CUMPLIMIENTO DE LA GUÍA PARA
NORMALIZACIÓN DE TRABAJOS DE FIN DE GRADO

Fecha de entrega: 26/ 01 / 2024

INFORMACIÓN DEL AUTOR
Nombres – Apellidos: Odalis Tamara Vinueza Villagomez
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: Ciencias Pecuarias
Carrera: Agroindustria
Título a optar: Ingeniera Agroindustrial
 Ing. César Iván Flores Mancheno, PhD. Director del Trabajo de Integración Curricular  Ing. Iván Patricio Salgado Tello, MsC. Asesor del Trabajo de Integración Curricular

