



Trabajo de integración curricular, previo a la obtención del título de Ingeniero en Biotecnología

Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Determinación del efecto de distintas concentraciones de *Lactiplantibacillus plantarum* y cloruro de sodio en la fermentación láctica de hortalizas encurtidas

Autor: Catagua Yela, Alexis Javier

Tutora: Ing. Sánchez Llaguno, Sungey Naynee, PhD.

Santo Domingo, 01 de marzo de 2024

Reporte de verificación de contenido



Plagiarism report

Catagua Tesis copileaks.pdf

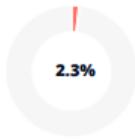
Scan details

Scan time:
March 12th, 2024 at 0:41 UTC

Total Pages:
52

Total Words:
12830

Plagiarism Detection



Types of plagiarism		Words
● Identical	1.7%	221
● Minor Changes	0.5%	68
● Paraphrased	0.1%	10
● Omitted Words	0%	0

AI Content Detection



Text coverage
● AI text
● Human text

.....
Sánchez Llaguno, Sungey Naynee PhD.

C.C: 1205348873

Director del Proyecto de Investigación



Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Certificación

Certifico que el trabajo de integración curricular: **“Determinación del efecto de distintas concentraciones de *Lactiplantibacillus plantarum* y cloruro de sodio en la fermentación láctica de hortalizas encurtidas”** fue realizado por el señor **Catagua Yela, Alexis Javier**; el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, siendo revisado y analizado por la herramienta de prevención y verificación de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Santo Domingo de los Tsáchilas, 01 de marzo del 2024

.....

PhD. Sánchez Llaguno, Sungey Naynee

C.C.: 1205348873



Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Responsabilidad de Autoría

Yo, **Catagua Yela, Alexis Javier**, con cédula de ciudadanía 1755183389, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: **“Determinación del efecto de distintas concentraciones de *Lactiplantibacillus plantarum* y cloruro de sodio en la fermentación láctica de hortalizas encurtidas”** es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Santo Domingo de los Tsáchilas, 01 de marzo de 2024

Catagua Yela, Alexis Javier

C.C.: 1755183389



Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Autorización de Publicación

Yo, **Catagua Yela, Alexis Javier**, con cédula de ciudadanía 1755183389, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de integración curricular: **“Determinación del efecto de distintas concentraciones de *Lactiplantibacillus plantarum* y cloruro de sodio en la fermentación láctica de hortalizas encurtidas”** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Santo Domingo de los Tsáchilas, 01 de marzo de 2024

Catagua Yela, Alexis Javier

C.C.: 1755183389

Índice de Contenido

Agradecimientos	I
Resumen	1
Abstract	2
Capítulo I	3
Introducción	3
Estado del arte	5
Justificación	6
Objetivos de la investigación	7
Objetivo general	7
Objetivos específicos	7
Capítulo II	9
Marco teórico	9
Conservación de los alimentos	9
Aditivos y conservantes químicos	10
Conservas vegetales	12
Bioconservación	13
Bacterias ácido lácticas y bacteriocinas	15
Capítulo III	20
Materiales y métodos	20
Materiales	20

Métodos	21
Metodología	21
Técnicas	25
Diseño experimental	25
Metodología	27
Capítulo IV	28
Resultados y discusiones sobre el estudio del efecto de distintas concentraciones de <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> y NaCl en la fermentación láctica de hortalizas encurtidas	28
Análisis de varianza para densidad de la salmuera	28
Análisis de varianza para salinidad final	29
Análisis de varianza para pH de la salmuera	30
Análisis de varianza para determinación de acidez titulable	31
Análisis de varianza para determinación de humedad	32
Análisis de varianza para determinación de cenizas	33
Resultados del estudio de dos especies vegetales (pepino y berenjena) en la fermentación láctica (factor A)	34
Resultados de la influencia de la especie vegetal (Factor A) en el porcentaje de humedad del encurtido (Tukey, $p < 0,05$).	37
Resultados del estudio de dos concentraciones de NaCl (10 y 15%) en la fermentación láctica (factor B)	39
Prueba de significancia Tukey $p < 0,05$ para la interacción A*B	44
Análisis de componentes principales	47

Análisis microbiológico	50
Análisis organoléptico	52
Análisis sensorial (textura) para berenjena encurtida.	56
Capítulo V	58
Conclusiones	58
Especie vegetal (Factor A)	58
Concentración de NaCl (Factor B)	58
Concentración de <i>L. plantarum</i> (Factor C)	58
Efecto de las especies vegetales en la concentración de NaCl (Interacción AB)	59
Análisis microbiológico	59
Recomendaciones	60
Bibliografía	61

Índice de Tablas

Tabla 1 Bacterias ácido lácticas (BAL) aceptadas como probióticos para el consumo humano.	16
Tabla 2 Microorganismos productores de bacteriocinas.	17
Tabla 3 Recursos utilizados en la preparación de encurtidos vegetales.	20
Tabla 4 Recursos utilizados en la evaluación física, química y microbiológica de los encurtidos.	21
Tabla 5 Factores y niveles realizados en el estudio.	25
Tabla 6 Tratamientos comparados durante el estudio.	26
Tabla 7 Análisis de varianza para densidad de la salmuera.	28
Tabla 8 Análisis de varianza para salinidad final.	29
Tabla 9 Análisis de varianza para pH de la salmuera.	30
Tabla 10 Análisis de varianza para la acidez titulable.	31
Tabla 11 Análisis de varianza para la humedad.	32
Tabla 12 Análisis de varianza para cenizas.	33
Tabla 13 Análisis de componentes principales para los parámetros estudiados.	47
Tabla 14 Resultados del análisis microbiológico de las muestras de encurtidos vegetales para pepino y berenjena.	50

Índice de Figuras

Figura 1 Rutas metabólicas en el metabolismo de las hexosas por BAL (Waldir et al., 2007).	19
Figura 2 resultado de la influencia de la especie vegetal (Factor A) en la salinidad final de la salmuera (Tukey $p < 0,05$).	34
Figura 3 Influencia de la especie vegetal (Factor A) en el pH de la salmuera (Tukey $p < 0,05$).	35
Figura 4 Estudio de la influencia en la acidez titulable según la especie vegetal (Factor A, Tukey $p < 0,05$).	36
Figura 5 Resultados de la influencia de la especie vegetal (Factor A) en el porcentaje de humedad del encurtido (Tukey, $p < 0,05$).	37
Figura 6 Resultados de la influencia de la especie vegetal (Factor A) en el porcentaje de cenizas del encurtido.	38
Figura 7 Estudio de la influencia de la concentración de NaCl (Factor B) en la salinidad final de la salmuera.	39
Figura 8 Resultado del estudio de la influencia de la concentración de sal (Factor B) en la densidad final de la salmuera.	40
Figura 9 Resultados para el efecto de la concentración de sal (Factor B) en el pH de la salmuera.	41
Figura 10 Efecto de la concentración de sal (Factor B) en el porcentaje de humedad del encurtido.	42
Figura 11 Influencia de la concentración de NaCl (Factor B) en el porcentaje de cenizas del encurtido vegetal.	43

Figura 12 Estudio del efecto de la interacción A*B (Vegetal: pepino y berenjena; y concentración de NaCl: 10% y 15%) en la densidad.	44
Figura 13 Estudio del efecto de la interacción A*B (Vegetal: pepino y berenjena; y concentración de NaCl: 10% y 15%) en el pH de la salmuera.	45
Figura 14 Estudio del efecto de la interacción A*B (Vegetal: pepino y berenjena; y concentración de NaCl: 10% y 15%) en el porcentaje de cenizas del encurtido vegetal.	46
Figura 15 Gráfico de sedimentación de componentes principales para las variables estudiadas en el proceso de elaboración de encurtidos vegetales.	48
Figura 16 Estudio de la influencia de las variables del proceso de elaboración de encurtidos vegetales (gráfico de componentes principales).	49
Figura 17 Análisis sensorial (color) para pepino encurtido. figura muestra los resultados obtenidos en el análisis organoléptico para el color del pepino encurtido.	52
Figura 18 Análisis sensorial (textura) para pepino encurtido.	53
Figura 19 Análisis sensorial (olor) para pepino encurtido.	54
Figura 20 Análisis sensorial (color) para berenjena encurtida.	55
Figura 21 Análisis sensorial (textura) para berenjena encurtida.	56
Figura 22 Análisis sensorial (olor) para berenjena encurtida.	57

Agradecimientos

Agradecido infinitamente con mi madre, pues fue la única persona que me brindó apoyo incondicional en todo momento, quien puso todo su esfuerzo para que me convirtiera en un gran profesional. Hoy, todo ese esfuerzo se ve reflejado en la presentación de este trabajo de titulación. Gracias por todo, mamá.

En el ámbito académico, agradecer a los docentes que impartieron sus conocimientos para mi formación profesional y en especial, a la doctora Nahir Dugarte, docente a quien le tengo mucho cariño y que me brindó facilidades durante diferentes etapas de mi carrera universitaria y además, a la doctora Sungey Sánchez, tutora de tesis, quien me apoyó durante todo el transcurso del trabajo de titulación y además logró despertar en mí una pasión por esta rama de la biotecnología.

A mis amistades, como Carlos o Kerly. Lamento ser a veces una persona poco expresiva e inclusive fría, pero realmente los aprecio. Gracias por hacer más amena mi estancia en la institución.

A las dos de las personas que más aprecio tengo. A Sthefania, prácticamente mi hermana, a quien tengo un amor incondicional y que valoro mucho. Y a Alexandra, gracias por estar presente desde que inicié y apoyarme en cada momento, te quiero.

Por último, a quienes formaron parte de esta etapa, a aquellos que siguen conmigo y con quienes ya no tengo contacto, gracias por haber estado presentes y compartir al menos un pedacito de su vida conmigo.

Resumen

La presente investigación tuvo como objetivo estudiar cómo la concentración de NaCl y la concentración *Lactiplantibacillus plantarum* afectan la fermentación láctica de diferentes especies vegetales en el encurtido. Se aplicó ANOVA y se empleó un modelo estadístico trifactorial (especie vegetal, concentración de NaCl y concentración *L. plantarum*). Se analizaron parámetros como la densidad, salinidad final, pH, acidez, porcentaje de humedad y porcentaje de cenizas. La especie vegetal (Factor A) influyó en la salinidad final, pH, acidez, porcentaje de humedad y de cenizas; en cambio, La concentración de NaCl (Factor B) ejerció efectos sobre la densidad, salinidad final, pH, porcentaje de humedad y de cenizas; por último, el factor C (concentración *L. plantarum*) no influyó en ninguno de los parámetros estudiados. Para el análisis microbiológico (aerobios), se obtuvieron valores de $1.42E+06$ y $1.30E+06$ UFC/ml, determinando que estos encurtidos vegetales pueden ser consumidos como probióticos.

Palabras clave: Encurtido, bioconservación, concentración NaCl, *Lactiplantibacillus plantarum*

Abstract

The present investigation aimed to study how NaCl concentration and *Lactiplantibacillus plantarum* concentration affect lactic fermentation of different plant species in pickling. ANOVA was applied and a three-factor statistical model (plant species, NaCl concentration and *L. plantarum* concentration) was used. Parameters such as density, final salinity, pH, acidity, moisture percentage and ash percentage were analyzed. The plant species (Factor A) influenced final salinity, pH, acidity, moisture and ash percentage; on the other hand, NaCl concentration (Factor B) had an effect on density, final salinity, pH, moisture and ash percentage; finally, factor C (*L. plantarum* concentration) did not influence any of the parameters studied. For the microbiological analysis (aerobes), values of 1.42E+06 and 1.30E+06 CFU/ml were obtained, determining these vegetable pickles can be consumed as probiotics.

Keywords: Pickle, biopreservation, NaCl concentration, *Lactiplantibacillus plantarum*

Capítulo I

Introducción

La conservación de alimentos es una técnica empleada desde hace varios siglos, cuando el hombre empleó por primera vez la sal y el humo para detener el proceso de descomposición de la carne y el pescado. Por ello, con el transcurrir del tiempo, los conservantes se han transformado en parte indispensable de la industria alimentaria. Dentro de los conservantes químicos se destacan los sorbatos, benzoatos, ácido cítrico, sulfitos, sulfatos, nitritos, entre otros (EUFIC, 2022).

Entre los conservantes mencionados anteriormente, las sales de nitrito y nitrato son las más controversiales, puesto que en alimentos sometidos a asado pueden generar nitrosaminas, compuestos con propiedades cancerígenas. Es más, su uso se encuentra prohibido en la carne picada, puesto que mantienen una falsa apariencia de fresca (Ibáñez et al., 2003).

Por ello, con el pasar de los años, ha aumentado el interés por el diseño de alimentos saludables, mínimamente procesados y con la menor cantidad de aditivos químicos posibles. De esta forma, surge la bioconservación, puesto que explota la capacidad de microorganismos seguramente reconocidos (GRAS) y/o de sus metabolitos para inhibir el desarrollo de patógenos en alimentos. Por ejemplo, para la preparación de derivados lácteos, la fermentación constituye un mecanismo de bioconservación excelente. Durante este proceso, las bacterias ácido lácticas contribuyen al desarrollo de las características organolépticas del producto final y a su vez, generan un ambiente antagónico para el crecimiento de patógenos al producir ácidos orgánicos (ácido láctico) y en ciertos casos, metabolitos como las bacteriocinas (García et al., 2013).

Las bacteriocinas son un sustituto potencial de conservantes químicos, puesto a que son producidas por bacterias ácido lácticas y que como se mencionó con anterioridad, cumplen un rol principal en la preservación y fermentación de alimentos. El uso de bacteriocinas se atribuye a sus funciones como inhibir una gran cantidad de

microorganismos patógenos, su acción en amplios rangos de pH y termoestabilidad, proponiendo diferentes aplicaciones para este tipo de moléculas en los alimentos (Mondragon et al., 2013, p. 64).

De manera general, las bacterias ácido lácticas (BAL) son capaces de realizar la fermentación láctica, consumiendo glucosa y produciendo ácido láctico. Este mecanismo es suscitado por la necesidad de regenerar NAD^+ consumido durante la glucólisis. Como se mencionó anteriormente, las BAL participan en la fermentación de la leche. Aquí, la lactosa es aprovechada como sustrato, produciendo ácido láctico. La acidez de este compuesto permite la coagulación de la leche y le otorga excelentes propiedades conservantes dado por el descenso de pH en el medio (Riofrio, 2015, p. 20).

Dentro del catálogo de bacterias ácido lácticas, se destaca *Lactobacillus plantarum*, una bacteria láctica heterofermentativa facultativa, con un metabolismo muy flexible y versátil que se puede encontrar en un amplio rango de ambientes, donde se hallan productos lácteos y cárnicos fermentados. Sin embargo, su hábitat más común son los alimentos fermentados de origen vegetal (Proaño, 2013).

L. plantarum, además de actuar como bioconservante, es empleado como probiótico. En un estudio realizado por Bosch et al (2011), se determinó que el consumo del probiótico *L. plantarum* mejora el tránsito intestinal en ancianos, donde el número de individuos con estreñimiento disminuyó significativamente en el grupo probiótico en contraste del grupo placebo. Además, existió una disminución significativa en los niveles de colesterol y proteína C-reactiva.

L. plantarum puede ser aplicado en la producción de encurtidos. Llámese encurtido a cualquier producto de origen vegetal hortícola, que tras diversas transformaciones, tiene vinagre (ácido acético) como subproducto. De todas las especies vegetales utilizadas como encurtido, resalta el pepinillo. La materia prima puede ser sometida o no a fermentación ácido láctica. De la misma forma, se pueden elaborar numerosos tipos de encurtido al agregar azúcares, especias y aromas, pero siempre con la presencia de ácido acético, pues

este constituye su ingrediente principal y el encargado de preservar la materia vegetal sometida a este proceso (Martínez, 2006).

Estado del arte

La fermentación ácido láctica es llevada a cabo por las BAL, proceso que transcurre durante la falta de presencia de oxígeno y esta se manifiesta en la transformación de los azúcares presentes en la materia vegetal en productos como ácido láctico, etanol y dióxido de carbono (Pérez, 2006, p. 13). Este proceso puede verse afectado por la concentración de cloruro de sodio presente en la salmuera, la concentración del microorganismo productor de ácido láctico e incluso dependiendo de la especie vegetal sometida al tratamiento. Por ello, comprender cómo estas variables son capaces de afectar la fermentación ácido láctica es fundamental para mejorar el proceso de encurtidos.

Dentro de todas estas variables, la concentración de sal común es la que tiene una mayor influencia en el transcurso de la fermentación, pues Pérez (2006, p. 14) define a la concentración de NaCl, la ausencia de aire y la temperatura como los principales factores en la elaboración de encurtidos. Sin embargo, no se han estudiado como otras variables como las ya mencionadas con anterioridad pueden afectarla.

El cloruro de sodio es la única sal empleada en la elaboración de encurtidos, puesto que otras sales pueden ser tóxicas o conferir propiedades indeseables al producto. La cantidad de sal puede ser mayor o menor, dependiendo del tipo de vegetal o fruto. Por ejemplo, en salmuera fuertes (10,5 al 15% de sal) no ocurre deterioro por microorganismos, pero tampoco existe fermentación láctica, pues la preservación es exclusiva debido al alto contenido de sal. Por otro lado, una concentración de sal que supere el 8% en pepinos y aceitunas y mayor al 2,5% en la col puede prevenir o retardar una fermentación láctica deseable (Pérez, 2006, pp. 14-15).

Los microorganismos empleados para el control biológico deben tener una alta actividad antagónica, ser seguros para la salud humana y no tener ningún efecto adverso

sobre la calidad del producto. De esta forma, las bacterias ácido lácticas (BAL) surgen como solución para la obtención de alimentos estables y bien conservados. Este grupo de microorganismos se encuentran clasificados como GRAS (generalmente reconocidos como seguros) y están presentes de forma natural en vegetales, pudiendo alcanzar altos recuentos en productos de IV gama (Oliveira et al., 2013). Por ejemplo, *L. plantarum* IMPC LP4 fue aislada de ensaladas mixtas y ha sido probada en el mismo producto para inhibir el desarrollo y crecimiento de *A. hydrophila*, *L. monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* y *S. aureus*, siendo eficaz contra todos ellos (Vascovo et al., 1996, citado en Oliveira et al., 2013).

L. plantarum, así como puede ser aplicada para bionconservación de vegetales encurtidos, se puede utilizar en la preservación de productos cárnicos. Moscoso (2017) evaluó *L. plantarum* y *S. carnosus* como cultivos protectores en carnes. Se demostró decrecimiento de la presencia de *E. coli* desde su elaboración hasta el día 15, evidenciando la viabilidad del cultivo protector de estos microorganismos.

Justificación

Los contaminantes químicos en alimentos pueden presentarse naturalmente o ser agregados durante su procesamiento. Estos compuestos, en altos niveles, se asocian a casos agudos de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) y pueden ser responsables de enfermedades crónicas. El peligro incluye a los compuestos químicos que, al ser consumidos en cantidades considerables, son carcinogénicos, mutagénicos o teratogénicos; son tóxicos, causando malestar en el consumidor e incluso causando su fallecimiento, al tratarse de los casos más graves (PAHO, 2015).

Los aditivos alimentarios, en este caso, son el mayor grupo de compuestos químicos usados durante el procesamiento de alimentos. Dentro de este grupo, se encuentran aquellas sustancias agregadas intencionalmente para modificar sus características. Dentro de este grupo se encuentran los antioxidantes, colorantes, edulcorantes, estabilizantes, y entre muchos más, se encuentran los conservantes (PAHO, 2015).

Dado esto, el aumento de la preocupación del cliente para obtener alimentos seguros para su consumo, pero que a su vez se encuentren libres de conservantes químicos, ha provocado la búsqueda de técnicas de conservación más naturales y amigables.

Los alimentos vegetales, tales como frutas, verduras y hortalizas, se encuentran presentes en la IV gama. Estos productos no sufren ningún tratamiento térmico que garantice la eliminación de los microorganismos patógenos que se encuentren presente. Por ello, en la etapa de lavado se utilizan desinfectantes ya que es el único momento donde se puede reducir la carga microbiana, además, previene contaminaciones cruzadas. El hipoclorito es el desinfectante más usado, pues es fácil de preparar, aplicar y monitorizar. No obstante, tiene baja efectividad, es corrosivo, perjudicial para el medio ambiente e inclusive, es capaz de generar productos potencialmente carcinogénicos y mutagénicos en el producto. Por ello, se está estudiando la bioconservación como barrera adicional para frenar el crecimiento de patógenos y así evitar el uso de desinfectantes químicos (Oliveira et al., 2013).

Objetivos de la investigación

Objetivo general

Determinar el efecto de distintas concentraciones de *Lactiplantibacillus plantarum* y cloruro de sodio en la fermentación láctica de hortalizas encurtidas.

Objetivos específicos

- Evaluar el proceso de elaboración de hortalizas encurtidas a partir de pepino (*Cucumis sativus* L.) y berenjena (*Solanum melongena*), mediante la aplicación de *Lactiplantibacillus plantarum* y cloruro de sodio para generar fermentación láctica.
- Establecer la influencia de diferentes concentraciones de *Lactiplantibacillus plantarum* al 2% y 3% en la fermentación láctica de hortalizas encurtidas.

- Establecer la influencia de diferentes concentraciones de cloruro de sodio al 10% y 15% en la fermentación láctica de hortalizas encurtidas.
- Analizar mediante análisis fisicoquímicos y microbiológicos las características de las hortalizas encurtidas a partir de pepino (*Cucumis sativus* L.) y berenjena (*Solanum melongena*).

Capítulo II

Marco teórico

Conservación de los alimentos

La alimentación es una de las necesidades básicas del ser humano y cualquier sistema biológico. Concretamente, la alimentación en el ser humano debe ser equilibrada para proporcionar un correcto desarrollo del individuo durante etapas tempranas de su vida y posterior aporte de nutrientes para satisfacer sus requerimientos energéticos. Con la alimentación, surge de la mano la conservación de los alimentos que se consumen (Fischer, 2019).

El primer método para conservar alimentos fue usar el aire y el sol, conocido como desecación. En la Edad Antigua, surgen el salazón y el ahumado. El azúcar es descubierto en Nueva Guinea y llega a Europa en el siglo IV. En el siglo XVI y XVII, se registran recetas para diferentes tipos de conservación de alimentos: verduras en salmuera, carnes conservadas en manteca de cerdo, etc. En 1795, se inventó el primer deshidratador artificial para alimentos, conocido como cuarto de agua caliente. En 1810, Peter Durand patentó los primeros enlatados. En 1864, Louis Pasteur descubre la pasteurización. A principios del siglo XX se crea la liofilización. A inicios del siglo XXI, surgen técnicas de irradiación en alimentos y la manipulación biotecnológica, expandiendo el espectro de la conservación (Fischer, 2019).

La mayoría de los alimentos que se consumen pasan por procesos de conservación que juegan un papel crucial en su durabilidad y frescura. Estos métodos se dividen en dos bloques principales: cómo actúan sobre los microorganismos y qué tipo de técnica es aplicada. En cuanto a la actuación sobre los microorganismos, se destacan los métodos que los destruyen o inactivan, los que impiden su desarrollo y proliferación, y los que evitan recontaminación. Por otro lado, la conservación según la clase de técnica aplicada se categoriza en conservación por variación de temperatura, que incluye la conservación por frío y por calor o térmica (Fischer, 2019).

La conservación por frío utiliza bajas temperaturas (aproximadamente 0 °C) para prolongar la frescura de los alimentos. El frío reduce la velocidad de las reacciones químicas y disminuye la actividad de los microorganismos. No obstante, no los elimina por completo, por lo que permite su replicación cuando el alimento entra en calor. Los métodos de conservación por frío incluyen la refrigeración, la congelación y la ultracongelación (Fischer, 2019).

La conservación por calor emplea el calor para desacelerar las reacciones químicas, inactivando enzimas en un proceso llamado desnaturalización. La durabilidad del producto depende de las variables de temperatura y tiempo, siendo mayor la durabilidad a temperaturas más elevadas. Los métodos asociados con la conservación térmica incluyen la pasteurización, la esterilización y la cocción (Fischer, 2019).

Además, existen otras técnicas de conservación que no dependen directamente de la temperatura, como la conservación por reducción de humedad. Este proceso controla la humedad en los alimentos, reduciendo la probabilidad de contaminación. Dentro de esta categoría se emplean métodos como la desecación, deshidratación, evaporación, liofilización y concentración. Por otro lado, existen métodos emergentes como las altas presiones, radiaciones, envasado al vacío, ultrafiltración, entre otros (Fischer, 2019).

Aditivos y conservantes químicos

Los aditivos alimentarios son sustancias añadidas a los alimentos para mejorar su color, textura, sabor o para su conservación. Pueden ser de origen natural o industrial. Los aditivos más usados son la sal, aunque no es considerado como uno, los mono y diglicéridos como emulsionantes, el caramelo (colorante), ácido cítrico como acidificante, vinagre/ácido acético como acidificante y conservante, bicarbonato de sodio (levadura química), ácido fosfórico y glutamato monosódico como potenciador de sabor (BIRTH, n.f.). Los aditivos se agrupan de la siguiente forma:

- E100-E199: Colorantes
- E200-E299: Preservantes

- E300-E399: Antioxidantes y reguladores de acidez
- E500-E599: Reguladores de pH y agentes antiaglutinantes
- E600-E699: Potenciadores de sabor
- E700-E799: Antibióticos
- E900-E999. Ceras, edulcorantes, gases, gasificantes y espumantes
- E1100-E1999: Compuestos adicionales

Por definición, los conservantes son sustancias o compuestos químicos con efecto antimicrobiano cuya función es retrasar o impedir transformaciones causadas por microorganismos en el producto. Éstos pueden actuar como agentes microbiostáticos o microbiocidas, dependiendo de su naturaleza química y la dosis utilizada (Lemmel, 2008).

Riesgos de los aditivos químicos

Los aditivos y conservantes alimentarios son inspeccionados y evaluados para determinar sus riesgos para la salud humana. El órgano responsable de ello en el Comité mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA). Este organismo basa sus evaluaciones en la revisión científica de todos los datos bioquímicos, toxicológicos y de cualquier otro tipo respecto a un aditivo determinado. Así mismo, exige estudios de toxicidad aguda, tanto a corto como a largo plazo, de esta manera, puede determinar el recorrido del aditivo en el cuerpo (absorción, distribución, metabolismo y excreción) y sus posibles efectos, tanto del propio aditivo como de productos generados por éste. El punto de partida para determinar si un aditivo puede ser usado se debe establecer la ingesta diaria admisible (OMS, 2023).

Por todo lo mencionado, solamente los aditivos alimentarios evaluados por el JECFA y que hayan pasado las pruebas de inocuidad y no presenten un riesgo apreciable para la salud de los consumidores pueden utilizarse a escala internacional, aplicando tanto para aditivos naturales como sintéticos. Aún así, puede existir riesgo de intoxicación y malestar del consumidor (OMS, 2023).

Ejemplificando, la harina blanca contiene persulfato y perborato de sodio, observándose que en animales puede causar retardo en el crecimiento, tumores epidérmicos y edemas, así como fosfato de calcio y propionato de sodio para mantener el pan fresco y blando. Todos los productos derivados de harinas blancas son causantes de estreñimientos y al mismo tiempo productor de toxemia alimentaria. A su vez, las carnes rojas, blancas y enlatadas contienen nitratos y nitritos, asociados con náuseas, mareos, vómitos, debilidad muscular, hipertensión, además de formar nitrosaminas en el estómago, subproductos carcinógenos y que producen gastroenteritis en el estómago. Por último, se encuentran los vegetales enlatados, a los cuales se les añade agua, sal, nitrato de sodio, EDTA y cloruro de calcio. Su ingestión se asocia con disturbios en el estómago y el corazón (Velázquez, s.f.).

Conservas vegetales

Las conservas son productos que han sido envasados herméticamente y sometidos a procesos de esterilización para lograr una conservación prolongada a temperatura ambiente. Aunque pueden realizarse conservas de todo tipo de alimento, las conservas vegetales son las más comunes, cuales poseen alta acidez ($\text{pH} < 4.5$) (LIPA, 2020). Concretamente, los encurtidos vegetales utilizan agua, sal y ácido acético para mejorar la conservación del producto, prevenir la aparición de patógenos y aportar texturas y sabores característicos a la hortaliza en cuestión (Vilarrasa, 2023).

Pepino

El pepino (*Cucumis sativum* L.) es un vegetal proveniente de India, cultivado en el norte de Asia desde hace 3000 años y extendido hasta Grecia e Italia. Es una planta herbácea anual rastrera y su cultivo se ha convertido en uno de los rubros más cultivados, ocupando el cuarto lugar del grupo de las hortalizas a nivel mundial, donde China destaca como de los mayores productores. En Ecuador, es cultivado en los valles secos y cálidos de

la sierra, zonas secas y sub-húmedas de la costa. Esta hortaliza es ampliamente usada en la elaboración de encurtidos (Moran, 2022).

Berenjena

Nativa del norte de India, esta especie es espinosa y con frutos amargos. La berenjena (*Solanum melongena* L.) pertenece a las solanáceas. Es una planta anual, aunque en el segundo año, la producción de frutos presenta un menor rendimiento y calidad. Aunque son capaces de resistir altas temperaturas, no responden a condiciones de humedad muy altas. En Ecuador, las principales provincias productoras de berenjena son Manabí, Pichincha y Santa Elena (Valero, 2022). El fruto de la berenjena es de color morado, redondeada u ovalada, de variada longitud, que la torna apta para la elaboración de encurtidos y conservas (García et al., 2003), pues a diferencia de la berenjena fresca, que contiene componentes nutricionales y antinutricionales en abundancia, la berenjena encurtida presenta un bajo contenido antinutricional, además de demostrar ser probiótica (Minh, 2022).

Bioconservación

Se define como bioconservación a la prolongación de la vida útil de un alimento a través del empleo de microbiota natural o controlada y sus compuestos antimicrobianos. Dentro de este concepto se agrupan desde técnicas usadas para obtener alimentos más seguros hasta la creación de alimentos mínimamente procesados y sin aditivos (Fuente y Barboza, 2010).

Una aproximación en la investigación para mejorar la seguridad en los alimentos se enfoca en la búsqueda de nuevos conservantes químicos o en el uso de tratamientos físicos más drásticos, sin embargo, estas soluciones presentan más contras que pros, como la toxicidad de los conservantes químicos comunes, la alteración de las propiedades nutricionales y organolépticas de alimentos, especialmente teniendo en cuenta que en la

actualidad el cliente demanda alimentos más seguros pero que a su vez estén mínimamente procesados y sin aditivos. En una sociedad desarrollada, se considera que la conservación de alimentos es la clave para asegurar la disponibilidad de alimentos como un beneficio vital. Por ejemplo, la fermentación de alimentos fue desarrollada más por defecto que por diseño, pues los alimentos contaminados durante su almacenamiento y que eran considerados aceptables para su consumo fueron la base para la producción y desarrollo de alimentos fermentados (Fuente y Barboza, 2010).

Bioconservación de alimentos vegetales

La microbiota natural de frutas y hortalizas frescas no suele ser patógena para el ser humano, sin embargo, durante el cultivo, cosecha, transporte y el procesado y manejo, el producto puede ser contaminado con patógenos de transmisión alimentaria (Alegre et al., 2020). Los patógenos predominantes en vegetales son *C. botulinum*, *B. cereus* y *L. monocytogenes*, debido a que se encuentran en la mayoría de suelos, así como otras bacterias capaces de contaminar las frutas y vegetales a través de desechos fecales, aguas residuales, tales como *Salmonella*, *Shigella*, *E. coli* y *Campylobacter*.

Debido a la gran cantidad de patógenos que pueden presentarse en estas especies vegetales, se consideran como pasos críticos a los métodos de producción seguros y los procedimientos adecuados de descontaminación para garantizar la seguridad de frutas y hortalizas listas para el consumo. Para eliminar o disminuir la microbiota presente en el alimento se emplean desinfectantes químicos, evitando a su vez la contaminación cruzada entre productos limpios y contaminados. Sin embargo, como se mencionó anteriormente, algunos de estos aditivos están relacionados con la producción de compuestos tóxicos y precisan de períodos bastante largos para degradarse, creando problemas ambientales. Consecuentemente, la bioconservación es una próspera alternativa, usando microorganismos o sus metabolitos ocupando el mismo nicho que los microorganismos patógenos y ejerciendo una relación de competencia (Alegre et al., 2020).

Para evitar microorganismos en vegetales, se pueden agregar metabolitos como la aplicación de nisina, reduciendo significativamente los niveles de *L. monocytogenes* en ejotes en refrigeración. Por ejemplo, la nisina o pedicida, tanto individual como en combinación con lactato de sodio, sorbato de potasio, ácido pítico y/o ácido cítrico se han probado en tratamientos de sanitización para reducir los niveles de *L. monocytogenes* en brócoli, repollo y frijol germinado, demostrando alta efectividad. Así mismo, la enterocina AS-48 es útil en la desinfección de vegetales crudos, inhibiendo fuertemente *S. aureus* e inhibiendo totalmente *L. monocytogenes* y *B. cereus* (Fuente y Barboza, 2010).

Bacterias ácido lácticas y bacteriocinas

Las bacterias ácido lácticas (BAL) son microorganismos gram positivos, variando de morfología bacilar a cocoide, son no esporulados, inmóviles, microaerófilicos o anaerobios facultativos, entre otras características, y además, pueden producir ácido láctico como producto mayoritario de la fermentación de carbohidratos. Se pueden hallar en alimentos como la leche y sus derivados, cárnicos y vegetales fermentados, frutas y hortalizas frescas, pescados y derivados de la pesca, e inclusive, algunas bacterias ácido lácticas pueden hallarse en la microbiota gastrointestinal (Cortés y Recillas, 2015). Se clasifican según la fermentación de la lactosa en:

- Homofermentativas usando la vía Embden-Meyerhoff-Parnas
- Heterofermentativas usando la vía de las hexosas monofosfato o de las pentosas.

Tabla 1

Bacterias ácido lácticas (BAL) aceptadas como probióticos para el consumo humano.

Microorganismo	
<i>L. acidophilus</i>	<i>Lactococcus lactis spp lactis</i>
<i>L. platarum</i>	<i>Lactococcus lactis spp cremoris</i>
<i>L. casei</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>L. casei spp rhamnosus</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>L. delbrueckii spp bulgaricus</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
<i>L. fermentum</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>
<i>L. reuteri</i>	<i>Bifidobacterium bifidum</i>
<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Bifidobacterium infantis</i>

Nota: Recuperado de Cortés y Recilla (2015).

Las BAL pueden ser usadas como cultivos protectores en alimentos como frutas y hortalizas mínimamente procesadas. Algo llamativo sobre la aplicación de bacterias BAL es el uso de microorganismos probióticos, dado al hecho de que estas bacterias, además de lograr el efecto protector en el alimento pueden mejorar la salud del consumidor. Por ejemplo, *Lactobacillus rhamnosus* GG ha logrado ejercer efectos beneficios en trozos de manzana mínimamente procesados en condiciones semi-comerciales a 5-10 °C, además de recluir la población de *Listeria monocytogenes* sin alterar la calidad del producto (Alegre et al., 2020).

Las bacterias BAL pueden controlar microorganismos patógenos en los alimentos gracias a la producción de bacteriocinas, metabolitos producidos por las primeras que actúan sobre la membrana celular, desestabilizando y permeabilizando al formar canales.

Estas se pueden clasificar según su tipo: I, II, III y IV. Su termorresistencia las convierte en un bioconservante ideal en la producción de vegetales enlatados y zumos tratados térmicamente (Alegre et al., 2020).

La nisina es una de las bacteriocinas más estudiadas como bioconservante tanto en frutas como hortalizas y es producida por *Lactococcus lactis* spp. *lactis*. Se encuentra aprobada como aditivo alimentario (E-314) y es comercializada bajo diferentes marcas registradas. Así mismo, existen otras bacteriocinas como la coagulina, la pediocina, bacteriocina RUC9, entre otras, que han demostrado ser eficaces para el control de patógenos en frutas y vegetales (Alegre et al., 2020).

Tabla 2

Microorganismos productores de bacteriocinas

Microorganismo	Bacteriocina
<i>Lactococcus lactis</i> spp <i>lactis</i>	Nisina
<i>Pediococcus acidilactici</i>	Pediocina PA-1
<i>Lactobacillus plantarum</i> C11	Plataricina E/F
<i>L. sake</i> 706	Sakacina A
<i>L. sakei</i> L45	Lactocina S
<i>L. brevis</i> SB27	Brevicina 27
<i>L. johnsonii</i>	Lactacina
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Mesentericina Y105
<i>Lactobacillus helveticus</i>	Helveticina

Nota: Recuperado de Cortés y Recilla (2015).

Las bacteriocinas pueden clasificarse de acuerdo a varios criterios, abarcando desde las características bioquímicas hasta genéticas como puede ser la familia productora, peso molecular, entre otros. Según Cortés y Recilla (2015), se agrupan en las siguientes clases:

- Clase I: Lantibióticos. Péptidos termolábiles y con presencia de aminoácidos poco comunes formados por modificaciones postraduccionales.
 - Clase Ia: Péptidos elongados, flexibles, catiónicos y anfipáticos.
 - Clase Ib: Péptidos globulares e hidrófobos inhibidores de reacciones vitales.
- Clase II: No lantibióticos, lineales y sin modificaciones postraduccionales, termoestables, que actúan a nivel de la membrana citoplasmática.
 - Clase IIa: Activos contra *Listeria*.
 - Clase IIb: Forman complejos y requieren de dos péptidos para mayor actividad antimicrobiana.
 - Clase IIc: Termoestables, no modificados y transportados a través de péptidos líderes.
- Clase III: Alto peso molecular y termolábiles.
- Clase IV: Bacteriocinas complejas. Péptidos con fracción proteica y fracción lipídica (mesenterocina 52) o glucídica (lactocina S).
- Clase V: Bacteriocinas de estructura circular y no modificadas postraduccionalmente.

Lactoplantibacillus plantarum

Lactobacillus plantarum se trata de una bacteria ácido láctica heterofermentativa facultativa, muy flexible y versátil metabólicamente y que puede hallarse en un gran rango de lugares, pudiendo estar presente tanto en los productos lácteos y cárnicos-fermentados como en la microbiota intestinal humana. Sin embargo, su nicho más común son los alimentos fermentados de origen vegetal (Proaño, 2013).

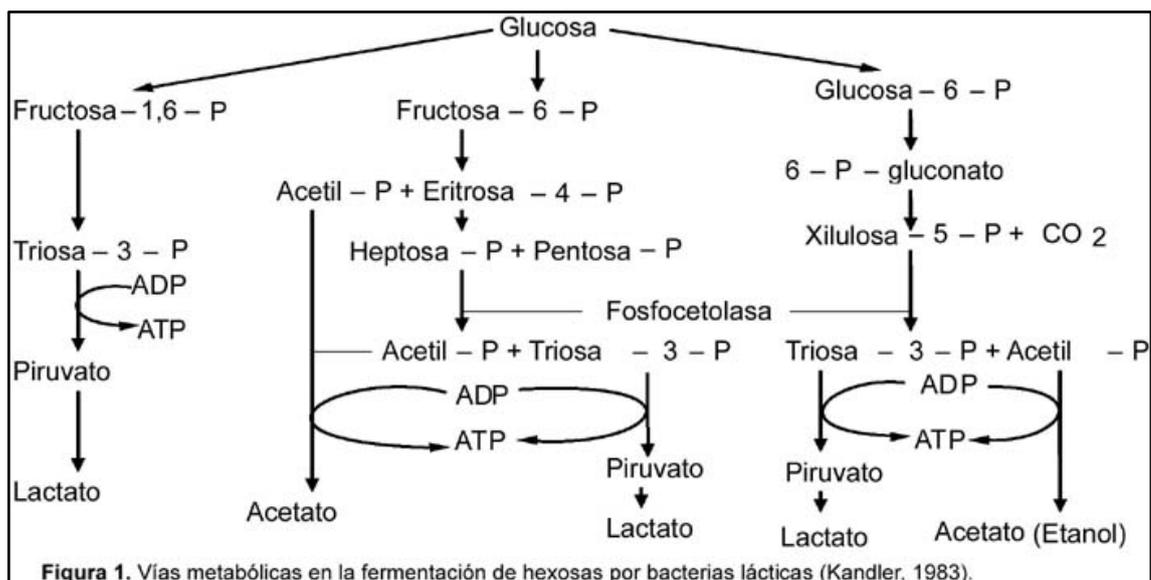
Este microorganismo se caracteriza por ser auxótrofo, pues no es capaz de sintetizar todos los factores de crecimiento, tales como bases nitrogenadas, aminoácidos y vitaminas de complejo B, requiriendo de un sustrato ácido; es genéticamente estable y puede alcanzar el intestino del ser humano sin producir daños en el individuo. Para que *Lactobacillus plantarum* pueda considerarse como probiótico, debe estar disponible en el consumible en concentraciones de 10^6 - 10^{11} UFC/mL durante su tiempo de vida útil (Proaño, 2013)

Metabolismo de las hexosas

La fermentación de las hexosas es realizada por tres vías metabólicas principales. Los lactobacilos homofermentativos siguen la ruta de la glucosa EMP, donde degradan fructosa-1,6-difosfato para generar lactato. *Lactobacillus plantarum*, al ser heterofermentativa facultativa, se comportan como homofermentativas en condiciones anaeróbicas, mientras que en presencia de oxígeno, producen ácido acético, acetoína y peróxido de hidrógeno además del característico ácido láctico (Waldir et al., 2007).

Figura 1

Rutas metabólicas en el metabolismo de las hexosas por BAL (Waldir et al., 2007).



Capítulo III

Materiales y métodos

Materiales

Tabla 3

Recursos utilizados en la preparación de encurtidos vegetales.

Materiales	Equipos	Reactivos	Muestras
Vasos de precipitado	Incubadora	NaOH 0.1 N	Inóculo <i>L. plantarum</i>
Probeta 500 mL	Potenciómetro	HCl 0.1 N	Pepino (<i>Cucumis sativum</i>)
Frascos de vidrio con tapa 300 mL	Cámara de flujo laminar	Cloruro de sodio	Berenjena (<i>Solanum melongena</i>)
Pinzas metálicas	Balanza analítica	Ácido cítrico	
Asa de siembra	Autoclave	D-Glucosa	
Micropipeta 1 mL		Agua purificada	

Tabla 4

Recursos utilizados en la evaluación física, química y microbiológica de los encurtidos.

Materiales/insumos	Equipos	Reactivos	Muestras
Crisoles	Mufla	Agua de peptona	Muestra de pepino encurtido
Balón de aforo 250ml	Potenciómetro	NaOH 0.1N	Muestra de berenjena encurtida
Micropipeta 1 mL	Salinómetro	Fenolftaleína	
Probeta 250 mL	Estufa		
Petrifilm	Balanza analítica		
Pinzas metálicas	Autoclave		
Picnómetro	Plancha de calentamiento		

Métodos

En este estudio se determinó como la concentración de *Lactiplantibacillus plantarum* y cloruro de sodio afectan a la fermentación láctica de hortalizas encurtidas. Para ello, se usaron vegetales como el pepino y berenjena, los cuales fueron sometidos a 30 días de fermentación.

Metodología

Preparación de la salmuera. Se utilizó agua purificada de botellón debido a su pretratamiento para el consumo humano. Se preparan salmueras al 10% y 15% de concentración en cloruro de sodio y se agrega D-glucosa en una concentración del 0,5%. Por último, se acidifica con HCl al 0,1N o en todo caso, se basifica con NaOH 0,1N para alcanzar un valor de pH estimado en 5.

Preparación de los vegetales. Se prepara una solución de ácido cítrico al 2% que se emplea para desinfectar las hortalizas. Se trocea la muestra vegetal seleccionada y se

pesan 50 gramos para cada muestra, aproximadamente. Por último, se desinfecta la muestra en la solución de ácido cítrico durante 10-15 minutos.

Fermentación. Se esterilizan los frascos de vidrio de 300 mL en el autoclave a 121 °C durante 15 minutos. Se ingresan los materiales a usar en la cámara de flujo laminar y se esteriliza con sablón, alcohol y luz UV durante 15 minutos. Por último, con ayuda de unas pinzas metálicas estériles se añade la muestra vegetal respectiva a cada frasco, se adiciona 100 mL de la salmuera con su concentración de sal respectiva y con ayuda de una micropipeta, se agregan de 2 a 3 mL del inóculo de *L. plantarum* preparado, dependiendo del tratamiento. A la tercera semana, se agrega el 2% de sal a cada tratamiento y a la cuarta semana, se corta la fermentación aplicando bajas temperaturas.

Análisis de densidad. Se determina la densidad de la salmuera tras la fermentación. Para ello, se usó un picnómetro de 10 mL, limpio, seco y pesado previamente. Se introdujo la muestra, se volvió a pesar y se realizaron los cálculos previstos.

$$m_s = m_t - m_p$$

$$d_s = \frac{m_s}{v}$$

Donde:

m_t = masa total

m_s = masa salmuera

m_p = masa picnómetro vacío

Análisis de salinidad y pH. Se midió el porcentaje final de salinidad y pH de la salmuera tras el final de la fermentación. Se utilizó un salinómetro digital con la misma capacidad de medir pH. Tras la medición de cada muestra, se lavó el electrodo.

Determinación de acidez. Se preparó la muestra conforme a los procedimientos de la NTE (INEN 0381, 1986):

En un mortero, se trituran 25 gramos de la muestra problema y se trasvasa a un matraz Erlenmeyer con 50 mL de agua destilada. Esta solución se somete a baño maría

durante media hora y finalizado el proceso, se deja reposar. Por último, se filtra la muestra y se afora a 250 mL.

La titulación se realiza en alícuotas de 25 mL. Se agregan 2 gotas de fenolftaleína para determinar el punto de viraje de la solución. Posteriormente, se añade hidróxido de sodio 0,1N hasta alcanzar pH 6. De la misma forma, se continúa añadiendo NaOH hasta alcanzar pH 7 y por último, hasta que la solución llegase a un valor de 8,3, aproximadamente.

Realizada la titulación, se determina la cantidad exacta de NaOH necesaria para alcanzar un pH de 8,1 mediante la siguiente fórmula:

$$A = \frac{V_1 N_1 M}{V_2}$$

Donde:

A: Cantidad de ácido (g) por cada 100 g de muestra

V_1 : Volumen de NaOH (mL) usados para la titulación

N_1 : Normalidad de la solución de NaOH

M: Peso molecular del ácido referencia, en este caso, ácido láctico.

Determinación de humedad y cenizas. Se pesa el crisol previamente lavado y secado en la estufa a 100 °C durante 30 minutos. Posteriormente, se pesan aproximadamente 2 gramos de muestra y se agregó a un crisol. A continuación, se colocaron los crisoles de cada tratamiento en la estufa a 120 °C durante 2 horas. Finalizado el tiempo, se deja enfriar la muestra en el desecador y se registra el peso final del crisol junto a la muestra.

Para determinar el porcentaje de humedad, se emplea la siguiente fórmula:

$$\% H = \frac{W_2 - W_1}{W_0} * 100$$

Donde:

W_0 : Peso de la muestra (g)

W_1 : Peso del crisol + muestra tras el secado (g)

W_2 : Peso del crisol + muestra antes del secado (g)

Para la determinación de cenizas, se utilizó la misma muestra empleada para la determinación de humedad. Se introducen las muestras en la mufla a 600 °C durante 3 horas. Finalizado el temporizador, se retiran las muestras de la mufla para dejarlas enfriar en el desecador. Por último, se realizó el correspondiente pesaje.

Para determinar el porcentaje de ceniza, se empleó la siguiente fórmula:

$$\% C = \frac{W_2 - W_1}{W_0} * 100$$

Donde:

W_0 : Peso de la muestra (g)

W_1 : Peso del crisol vacío (g)

W_2 : Peso del crisol + muestra calcinada (g)

Pruebas microbiológicas. Se realizaron pruebas microbiológicas para microorganismos aerobios, mohos y levaduras, coliformes y enterobacterias. Para ello, se prepara agua de peptona (relación: 15 gramos de peptona por cada 1L de agua destilada). Se calienta con agitación constante hasta punto de ebullición para asegurar la dilución total de la peptona.

Se dispensó el agua de peptona preparada en tubos de ensayo de la siguiente forma: 9 mL (dilución 10^{-1}) y 9,9 mL (dilución 10^{-3}). Tras ello, se autoclavaron los tubos a 121 °C durante 15 minutos. Finalizado el proceso de esterilización, se dejaron enfriar y se colocaron en la cámara de flujo laminar.

Consecuentemente, se realizó la inoculación en los petrifilms. Para ello, se extrae 1 mL de la salmuera correspondiente y se agrega al tubo de ensayo de dilución 10^{-1} . Se homogeneiza el tubo de ensayo y con una micropipeta, se obtiene 0,1 mL de este tubo y se añade al tubo de ensayo de dilución 10^{-3} , el cual fue agitado con firmeza para homogeneizar. Por último, con ayuda de la micropipeta, se añade la muestra preparada al petrifilm correspondiente y se incuba a 38 °C durante 72 horas. La dilución 10^{-1} fue usada

para coliformes y enterobacterias, mientras que la dilución 10^{-3} para aerobios y mohos y levaduras.

Análisis sensorial del producto. Se analizaron tres variables sensoriales: textura, color y olor. Para ello, se realizó una escala cuantitativa con 20 personas encuestadas.

Técnicas

Técnicas e instrumentos para la recolección de datos cuantitativos

- Encuesta auto diligenciada. Realizada para el análisis organoléptico del producto final.
- Fuentes secundarias de datos. Usados para respaldar la investigación actual.

Técnicas e instrumentos para la recolección de datos cualitativos

Este estudio carece de datos cualitativos.

Diseño experimental

Tabla 5

Factores y niveles realizados en el estudio.

Factores	Niveles
Muestra vegetal	a0= Pepino
	a1= Berenjena
Concentración de NaCl	b0= 10%
	b1= 15%
Concentración de inóculo <i>L. plantarum</i>	c0= 2%
	c1= 3%

Tratamientos

Tabla 6

Tratamientos comparados durante el estudio.

Tratamiento	Código	Descripción
T1	a0b0c0	Pepino + NaCl 10% + <i>L. plantarum</i> 2%
T2	a0b0c1	Pepino + NaCl 10% + <i>L. plantarum</i> 3%
T3	a0b1c0	Pepino + NaCl 15% + <i>L. plantarum</i> 2%
T4	a0b1c1	Pepino + NaCl 15% + <i>L. plantarum</i> 3%
T5	a1b0c0	Berenjena + NaCl 10% + <i>L. plantarum</i> 2%
T6	a1b0c1	Berenjena + NaCl 10% + <i>L. plantarum</i> 3%
T7	a1b1c0	Berenjena + NaCl 15% + <i>L. plantarum</i> 2%
T8	a1b1c1	Berenjena + NaCl 15% + <i>L. plantarum</i> 3%

Tipo de diseño

Se usó un diseño experimental ANOVA con modelo factorial (2x2x2) y se aplicó 3 repeticiones por tratamiento, para lo cual, se utilizaron los programas InfoStat y Statistica.

Variables medidas

Salinidad final. Se midió el porcentaje de salinidad de la salmuera tras la fermentación con un salinómetro digital.

Densidad. Se determinó la densidad de la salmuera tras la fermentación usando el picnómetro.

pH final. Se midió el pH final de la salmuera tras la fermentación con un salinómetro digital.

Acidez titulable. Se determinó la acidez de los vegetales fermentados empleando un potenciómetro e hidróxido de sodio.

Humedad. Se determinó el porcentaje de humedad de los vegetales fermentados mediante el secado de la muestra en la estufa.

Cenizas. Se determinó el porcentaje de cenizas de los vegetales fermentados mediante la calcinación de la muestra en la mufla.

Metodología

Inóculo de *L. plantarum*. Se prepara 100 mL de caldo MRS en un matraz erlenmeyer, para lo cual se calienta con agitación constante hasta punto de ebullición. Posteriormente, se autoclava el medio a 121 °C durante 15 minutos. Se deja enfriar el medio y en una cámara de flujo laminar, se inocula una muestra de *L. plantarum* con ayuda de un asa de siembra, realizando el procedimiento 3 veces. Por último, el inóculo se incuba durante 72 horas.

Capítulo IV

Resultados y discusiones sobre el estudio del efecto de distintas concentraciones de *Lactiplantibacillus plantarum* y NaCl en la fermentación láctica de hortalizas encurtidas

Análisis de varianza para densidad de la salmuera

Tabla 7

Análisis de varianza para densidad de la salmuera.

F.V.	SC	GL	CM	F	p-valor
R	1,6E-06	2	7,8E-07	0,09	0,9105
A: VEGETAL	2,3E-06	1	2,3E-06	0,28	0,6031
B: CONC. NaCl	2,6E-03	1	2,6E-03	308,21	<0,0001
C: CONC. LP	4,6E-06	1	4,6E-06	0,55	0,4687
AB	5,0E-05	1	5,0E-05	5,99	0,0282
AC	7,6E-06	1	7,6E-06	0,92	0,3545
BC	1,1E-05	1	1,1E-05	1,37	0,2614
ABC	1,6E-05	1	1,6E-05	1,91	0,1883
Error	1,2E-04	14	8,3E-06		
Total	2,8E-03	23			

Respecto a la densidad de la salmuera, se apreciaron diferencias significativas en el factor B (concentración inicial NaCl) y la interacción AB. No se halló diferencia significativa para el resto de tratamientos (Factor A y C; tipo de vegetal y concentración de *L. plantarum*, respectivamente) ni sus interacciones.

Análisis de varianza para salinidad final

Tabla 8

Análisis de varianza para salinidad final.

F.V.	SC	GL	CM	F	p-valor
R	2,5E-03	2	5,46	0,14	0,8729
A: VEGETAL	0,18	1	0,18	20,18	0,0005
B: CONC. NaCl	38,25	1	38,25	4200,41	<0,0001
C: CONC. LP	0,00	1	0,00	0,00	>0,9999
AB	3,8E-03	1	3,8E-03	0,41	0,5314
AC	0,00	1	0,00	0,00	>0,9999
BC	0,00	1	0,00	0,00	>0,9999
ABC	0,00	1	0,00	0,00	>0,9999
Error	0,13	14	0,01		
Total	38,34	23			

Basándose en el análisis de varianza representado en la tabla 8, se evidencia diferencia significativa para los factores A y B (tipo de vegetal y concentración de NaCl). Mientras tanto, no se observó diferencia significativa para el factor C (concentración de *L. plantarum*) ni para las interacciones de los factores.

Análisis de varianza para pH de la salmuera

Tabla 9

Análisis de varianza para pH de la salmuera.

F.V.	SC	GL	CM	F	p-valor
R	1,6E-03	2	8,2E-04	0,18	0,8341
A: VEGETAL	0,04	1	0,04	8,11	0,0129
B: CONC. NaCl	0,08	1	0,08	17,59	0,0009
C: CONC. LP	1,8E-03	1	1,8E-03	0,41	0,5307
AB	0,11	1	0,11	24,30	0,0002
AC	7,0E-04	1	7,0E-04	0,16	0,6966
BC	1,5E-03	1	1,5E-03	0,34	0,5700
ABC	3,4E-04	1	3,4E-04	0,08	0,7869
Error	0,06	14	0,03		
Total	0,29	23			

Según los resultados obtenidos del análisis de varianza se apreció diferencia significativa en la especie vegetal (Factor A), concentración de NaCl (Factor B) y la interacción AB, mientras que no se observó diferencia significativa en el factor C y el resto de interacciones.

Análisis de varianza para determinación de acidez titulable

Tabla 10

Análisis de varianza para la acidez titulable.

F.V.	SC	GL	CM	F	p-valor
R	0,06	2	0,03	0,67	0,5290
A: VEGETAL	0,49	1	0,49	11,11	0,0049
B: CONC. NaCl	0,01	1	0,01	0,23	0,6398
C: CONC. LP	0,04	1	0,04	1,01	0,3314
AB	0,02	1	0,02	0,53	0,4803
AC	0,06	1	0,06	1,39	0,2587
BC	0,17	1	0,17	3,89	0,0687
ABC	0,05	1	0,05	1,16	0,2989
Error	0,62	16	0,04		
Total	1,53	23			

Respecto al análisis de varianza de acidez titulable, se observó diferencia significativa en la especie vegetal (Factor A), mientras que no se halló diferencia significativa en la concentración de NaCl y la concentración de *L. plantarum* (Factor B y C) ni en las interacciones de los factores.

Análisis de varianza para determinación de humedad

Tabla 11

Análisis de varianza para la humedad.

F.V.	SC	GL	CM	F	p-valor
R	3,86	2	1,93	3,15	0,074
A: VEGETAL	210,27	1	210,27	343,58	<0,0001
B: CONC. NaCl	254,46	1	254,46	415,8	<0,0001
C: CONC. LP	1,13	1	1,13	1,85	0,1953
AB	68,77	1	68,77	112,37	<0,0001
AC	2,2E-03	1	2,2E-03	3,6E-03	0,9530
BC	1,8E-03	1	1,8E-03	2,9E-03	0,9575
ABC	1,62	1	1,62	2,65	0,1261
Error	8,57	14	0,61		
Total	548,68	23			

Tras realizar el análisis de varianza sobre porcentaje de humedad, representado en la tabla 12, se obtuvo diferencia significativa en la especie vegetal (Factor A), la concentración de NaCl (Factor B) y la interacción A*B. Por otro lado, no existió diferencia significativa para el factor C y las demás interacciones.

Análisis de varianza para determinación de cenizas

Tabla 12

Análisis de varianza para cenizas.

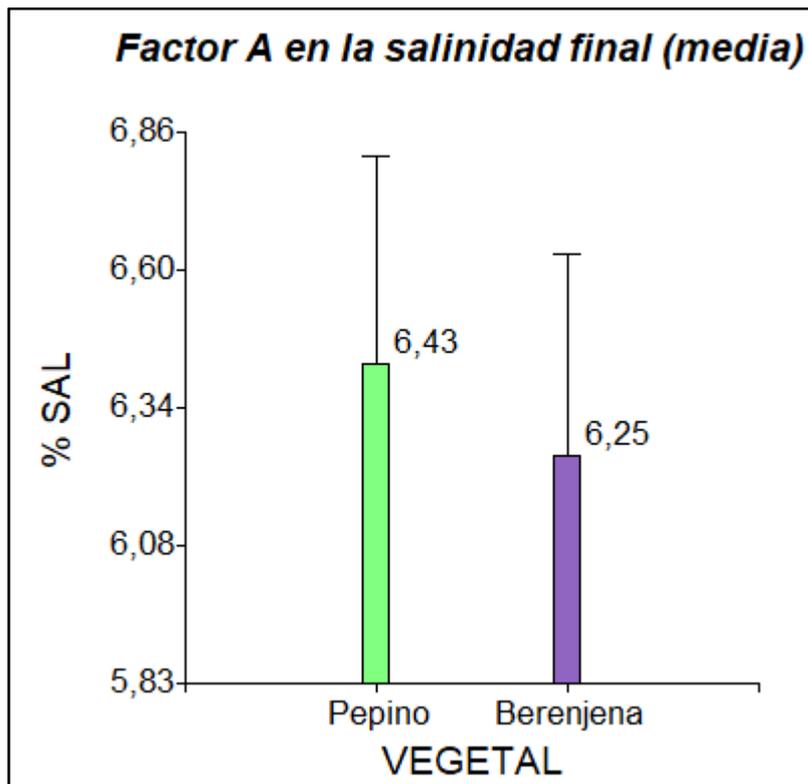
F.V.	SC	GL	CM	F	p-valor
R	0,16	2	0,08	0,14	0,8663
A: VEGETAL	35,61	1	35,61	73,82	<0,0001
B: CONC. NaCl	97,68	1	97,68	202,51	<0,0001
C: CONC. LP	0,94	1	0,94	1,74	0,2082
AB	0,57	1	0,57	1,05	0,3225
AC	0,18	1	0,18	0,34	0,5719
BC	0,1	1	0,10	0,19	0,6722
ABC	1,26	1	1,26	2,33	0,1496
Error	7,56	14	0,56		
Total	144,05	23			

Mientras tanto, para porcentaje de cenizas, demostrado en el análisis de varianza en la tabla 13, existió diferencia significativa para la especie vegetal (factor A) y concentración de NaCl (Factor B), mientras que no existió diferencia significativa para la concentración de *L. plantarum* (factor C) y las interacciones de los factores.

Resultados del estudio de dos especies vegetales (pepino y berenjena) en la fermentación láctica (factor A)

Figura 2

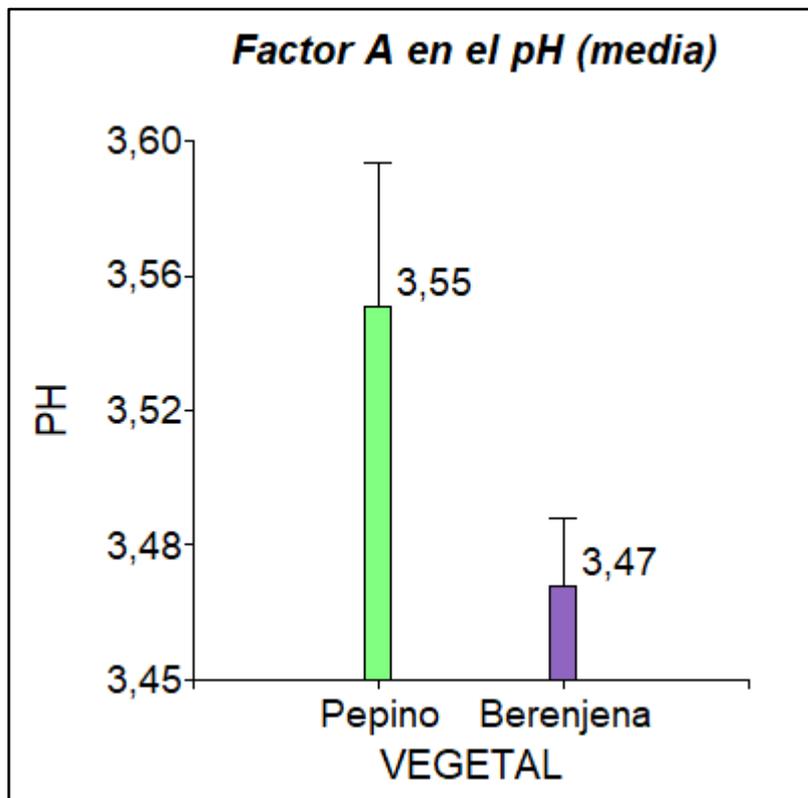
Resultado de la influencia de la especie vegetal (Factor A) en la salinidad final de la salmuera (Tukey $p < 0,05$).



En la figura 2, se observan dos grupos independientes Grupo A Pepino (6,43%) y grupo B berenjena (6,25%), donde la salmuera de pepino presentó una mayor salinidad respecto a la de berenjena.

Figura 3

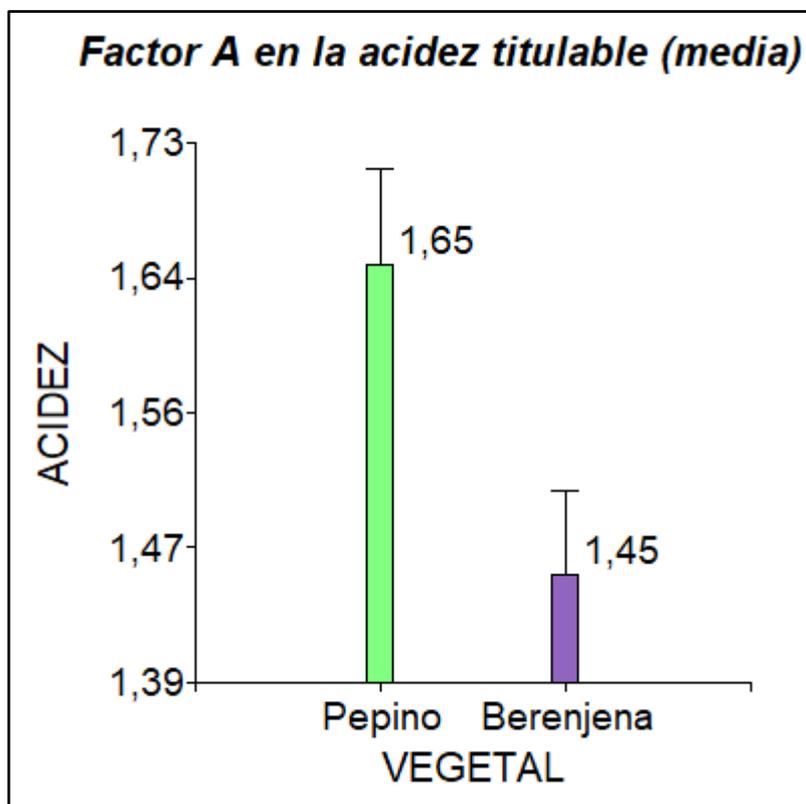
Influencia de la especie vegetal (Factor A) en el pH de la salmuera (Tukey $p < 0,05$).



A continuación, en la figura 3 se puede observar las medias para pH referente a la especie vegetal, donde la salmuera de pepino presentó un mayor pH (3,55) respecto a la de berenjena (3,47). Lindow (2023) menciona que el pH de la berenjena ronda el intervalo de 4.7-5.3, mientras que el del pepino 5.1-5.7 (valores dependientes de la madurez del fruto), explicando el por qué el encurtido de berenjena presenta un pH menor.

Figura 4

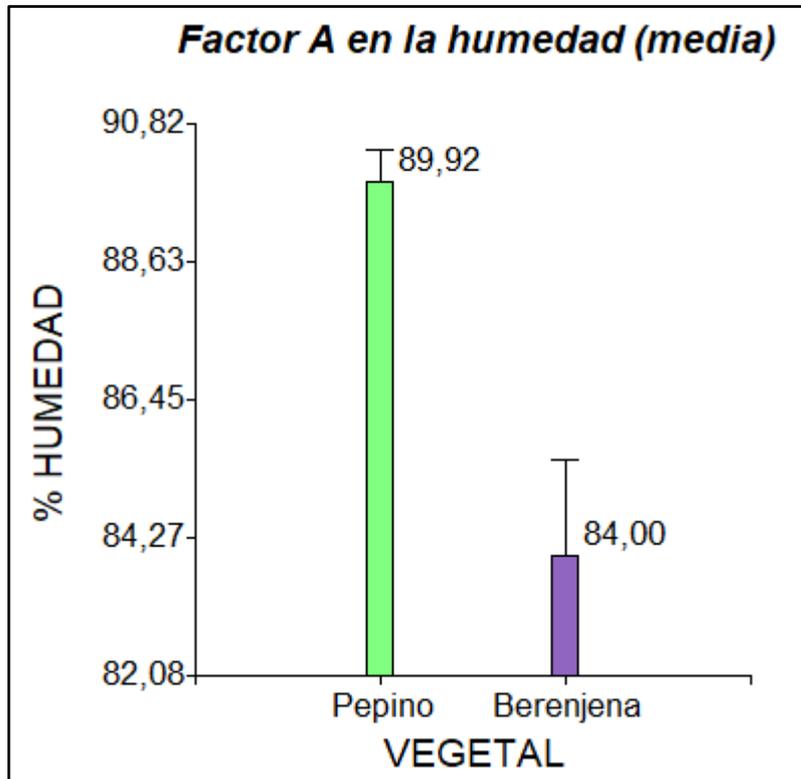
Estudio de la influencia en la acidez titulable según la especie vegetal (Factor A, Tukey $p < 0,05$).



Por otro lado, en la figura 4 se puede observar las medias de los grupos conforme a la prueba de significancia de Tukey ($p < 0,05$), que demostró diferencia significativa en la acidez titulable respecto al factor A, donde el encurtido de pepino demostró tener una mayor acidez (1,65%) respecto al de berenjena (1,45%). Respecto a este parámetro, Al-Azzawi y Al-Abdullah (2018) hallaron valores de acidez de 0.445% en pepino fresco, mientras que Heras et al (2013) obtuvieron acidez de 0.14 y 0.2% en berenjena fresca. Comparando estudios previos y el presente (1.65% vs 1.454%), se considera que el pepino tiene valores mayores de acidez que la berenjena, tanto fresca como encurtida.

Figura 5

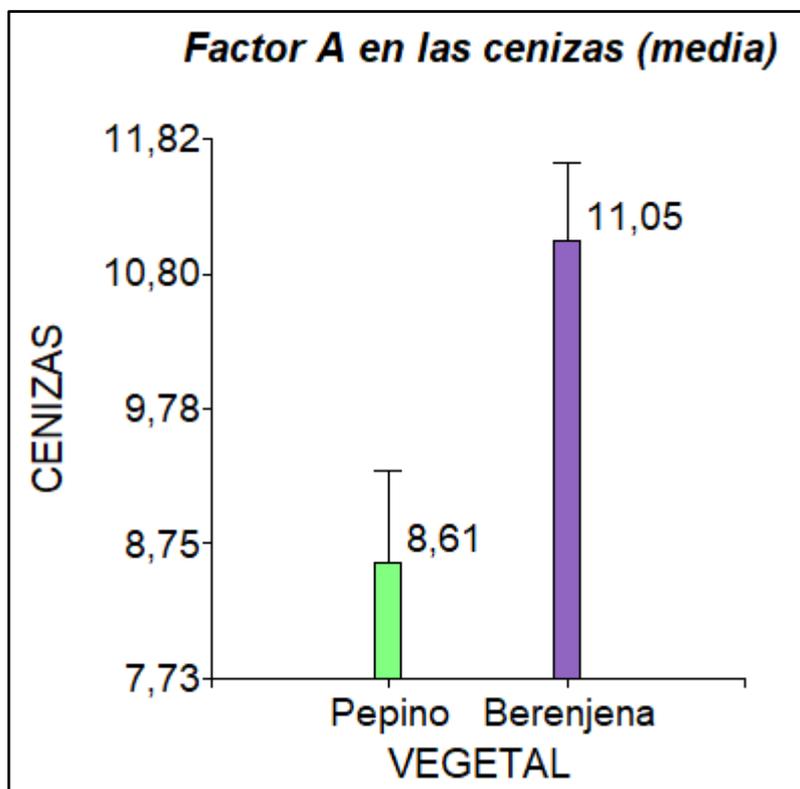
Resultados de la influencia de la especie vegetal (Factor A) en el porcentaje de humedad del encurtido (Tukey, $p < 0,05$).



A continuación, en la figura 5 se puede observar las medias del porcentaje humedad, demostrando diferencia significativa, donde la muestra de pepino encurtido presentó mayor humedad (89,642%) respecto a la muestra de berenjena (83,979%). Según Arroyo et al (2018, pp. 25-27), el pepino contiene aproximadamente 96.7 gramos de agua por cada 100 gramos de producto fresco, mientras que la berenjena, 93 gramos. La diferencia de humedad entre ambos vegetales contrasta con la información indagada.

Figura 6

Resultados de la influencia de la especie vegetal (Factor A) en el porcentaje de cenizas del encurtido.

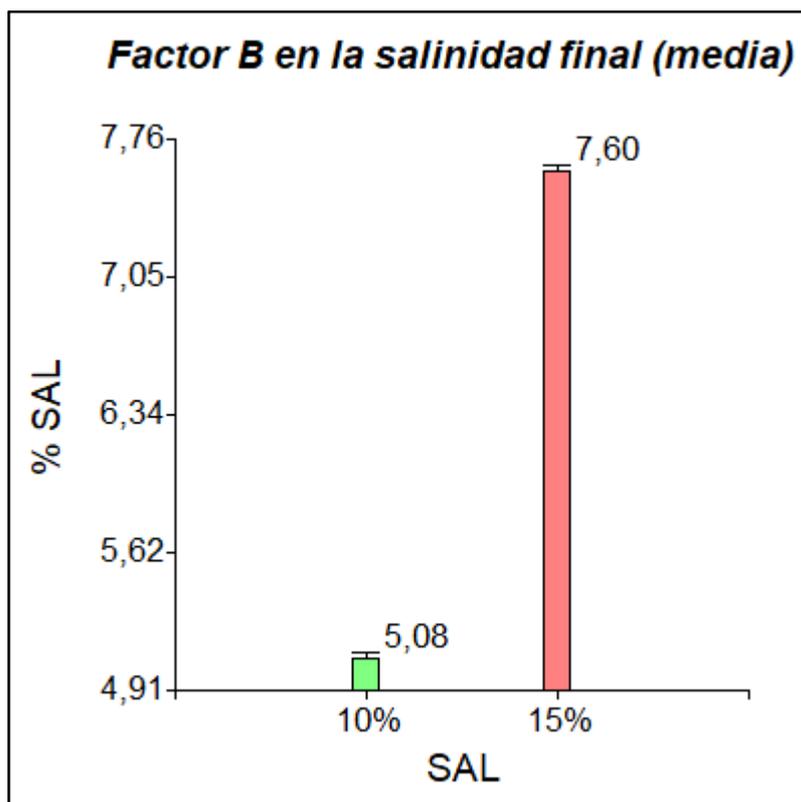


El último parámetro en el que se pudo observar diferencia significativa para el factor A fue el porcentaje de cenizas. En la figura 6 se puede observar las medias de los grupos conforme a la prueba de significancia de Tukey ($p < 0,05$), donde la muestra de pepino encurtido presentó menor cantidad de cenizas (8,61%) respecto a la muestra de berenjena (11,05%). Que el pepino presente menor porcentaje de cenizas a comparación de la berenjena se correlaciona directamente con el porcentaje de humedad, donde el porcentaje de cenizas se ve afectado positivamente por una menor cantidad de humedad (Al-Azzawi y Al-Abdullah, 2018).

Resultados del estudio de dos concentraciones de NaCl (10 y 15%) en la fermentación láctica (factor B)

Figura 7

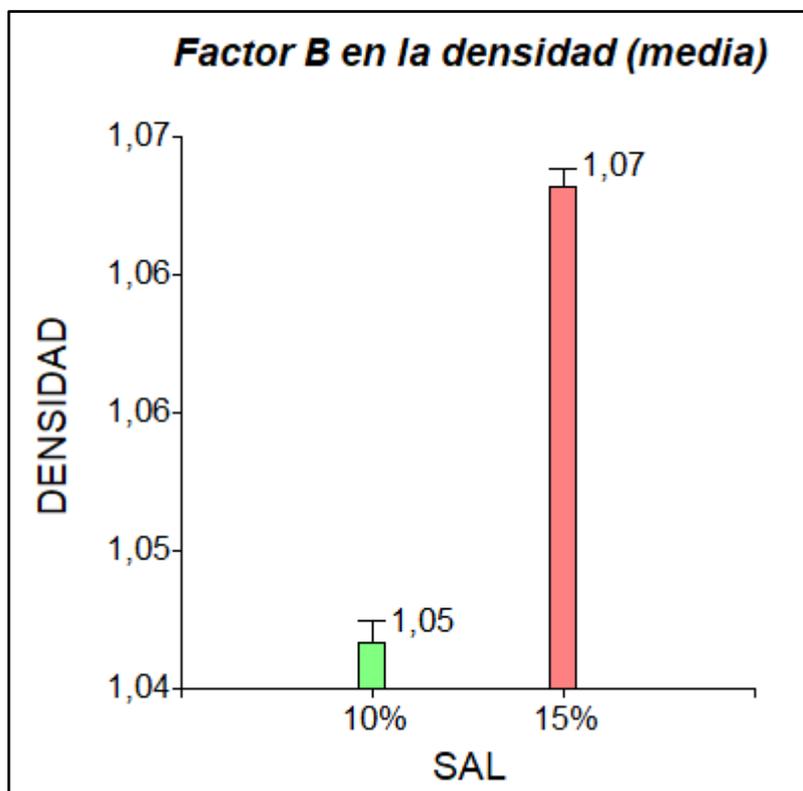
Estudio de la influencia de la concentración de NaCl (Factor B) en la salinidad final de la salmuera.



Para el factor B, se determinó diferencia significativa en el parámetro de salinidad final. Tras realizar la prueba de significancia de Tukey ($p < 0,05$), se observó una diferencia apreciable entre ambos grupos, obteniendo una salinidad final menor cuando se trató con la salmuera al 10% de NaCl (5,08%) a comparación de la salmuera con un 15% de concentración (7,6%).

Figura 8

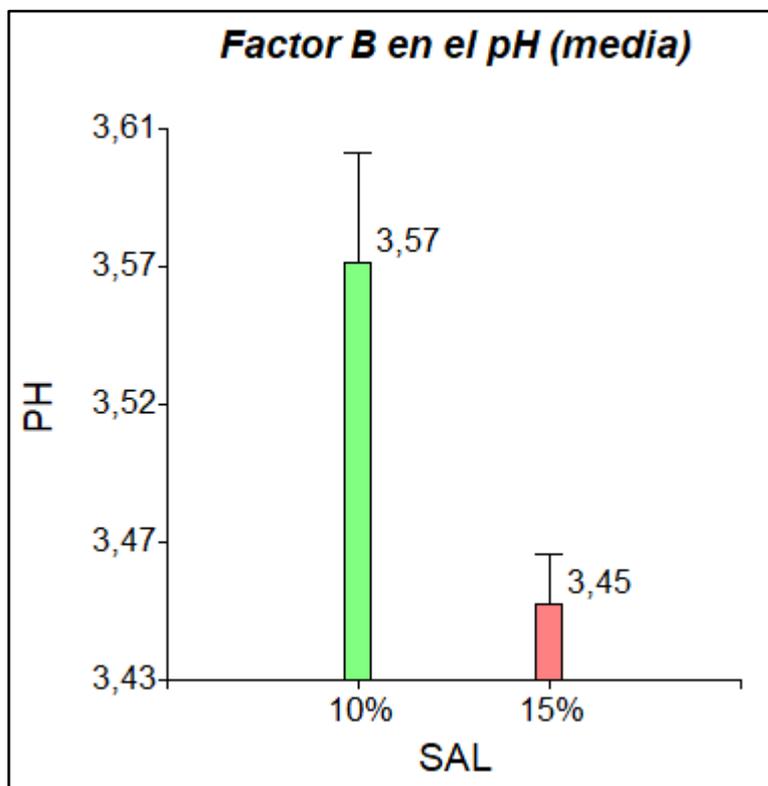
Resultado del estudio de la influencia de la concentración de sal (Factor B) en la densidad final de la salmuera.



En la figura 8, se puede observar diferencia significativa en el parámetro de densidad referente a las concentraciones de NaCl utilizadas inicialmente en la salmuera. Mientras que al usar un 10% de NaCl la densidad fue de 1.045 g/ml, al usar un 15% de NaCl la densidad final resultó en 1.066 g/ml. La densidad final de la salmuera depende de la concentración de NaCl, y aunque este valor no es muy diferenciable, sí es constante, difiriendo ± 0.021 g/ml entre ambos niveles, algo correlacionable con la diferencia en la salinidad final ($\pm 2.52\%$, equivalente a ± 0.025 g/ml) y que se comprueba en el análisis de componentes principales.

Figura 9

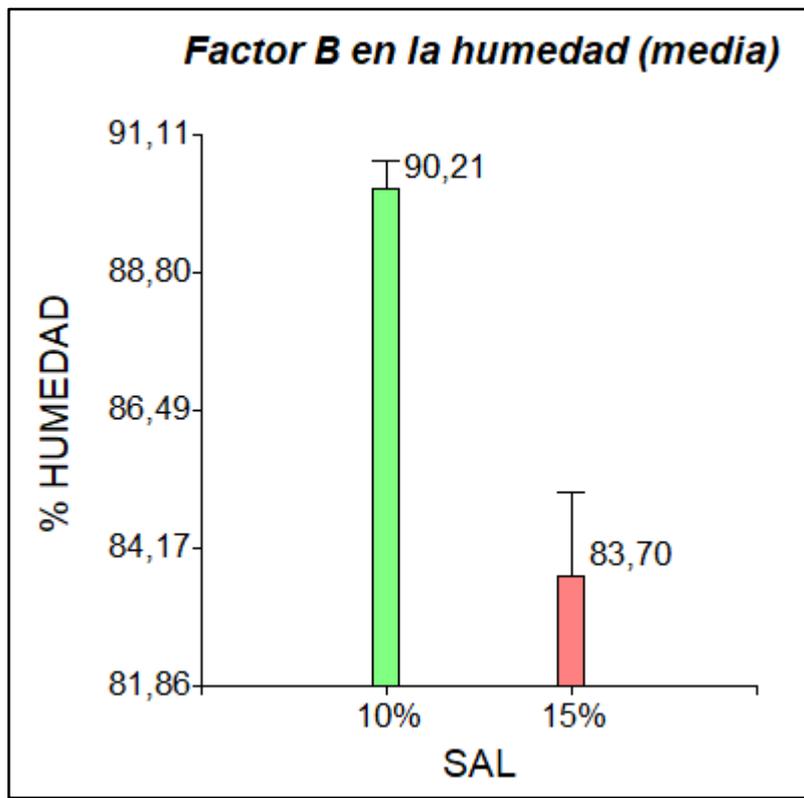
Resultados para el efecto de la concentración de sal (Factor B) en el pH de la salmuera.



Respecto al pH de la salmuera, en la figura 9 se evidencian dos grupos, donde se evidenció un mayor pH en la salmuera al 10% de NaCl (pH=3.57), mientras que este valor fue bastante menor para la salmuera al 15% (pH=3.45). Yoo et al (2006, p. 99) obtuvo valores de pH de 3.45-3.55 al usar una solución de NaCl 8% y diferentes concentraciones de iones Ca y Mg tras 30 días de fermentación, valores cercanos a los obtenidos en este estudio. Por otro lado, Kim et al (1999), halló menores niveles de pH en encurtidos de pepino en salmueras al 15% de NaCl a comparación de salmueras al 10% de NaCl tras siete días de fermentación.

Figura 10

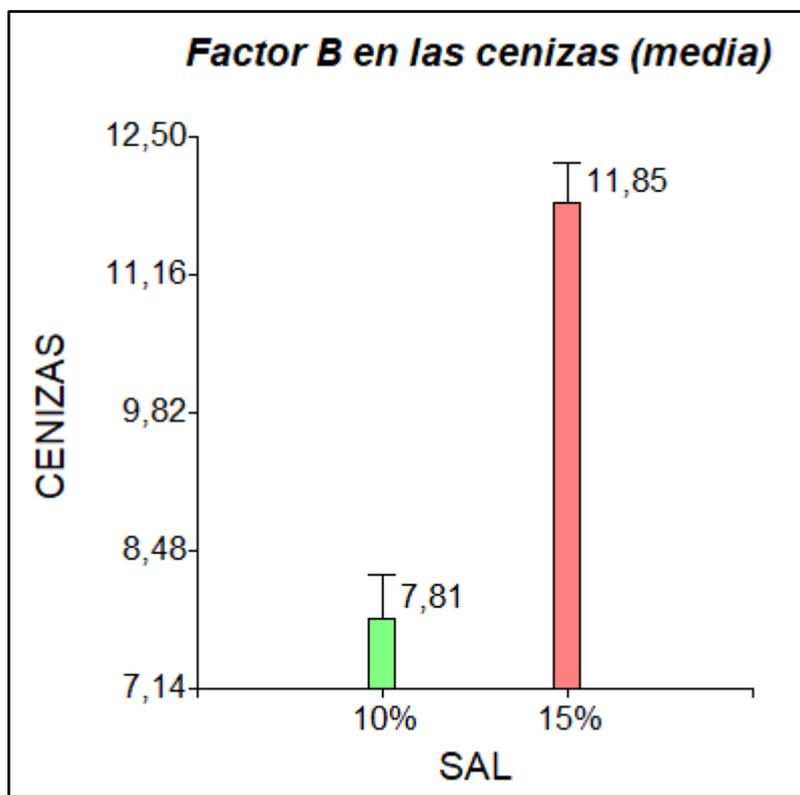
Efecto de la concentración de sal (Factor B) en el porcentaje de humedad del encurtido.



Consecuentemente, se obtuvo un porcentaje de humedad mayor en el encurtido cuando se trató con la salmuera al 10% de NaCl (90,19%) a comparación de la salmuera con un 15% de concentración (83,43%). Así mismo, el porcentaje de humedad está relacionado directamente a la ósmosis causada por la diferencia en la concentración de NaCl. La deshidratación osmótica consiste en sumergir un alimento en una solución con alta presión osmótica, creando un flujo de agua desde el interior del producto hacia el exterior, con tal de equilibrar ambos lados de las membranas de la célula, en este caso, vegetal. Por ello, a mayor concentración de NaCl, la humedad dentro del producto final es menor (Zapata y Castro, 1999).

Figura 11

Influencia de la concentración de NaCl (Factor B) en el porcentaje de cenizas del encurtido vegetal.

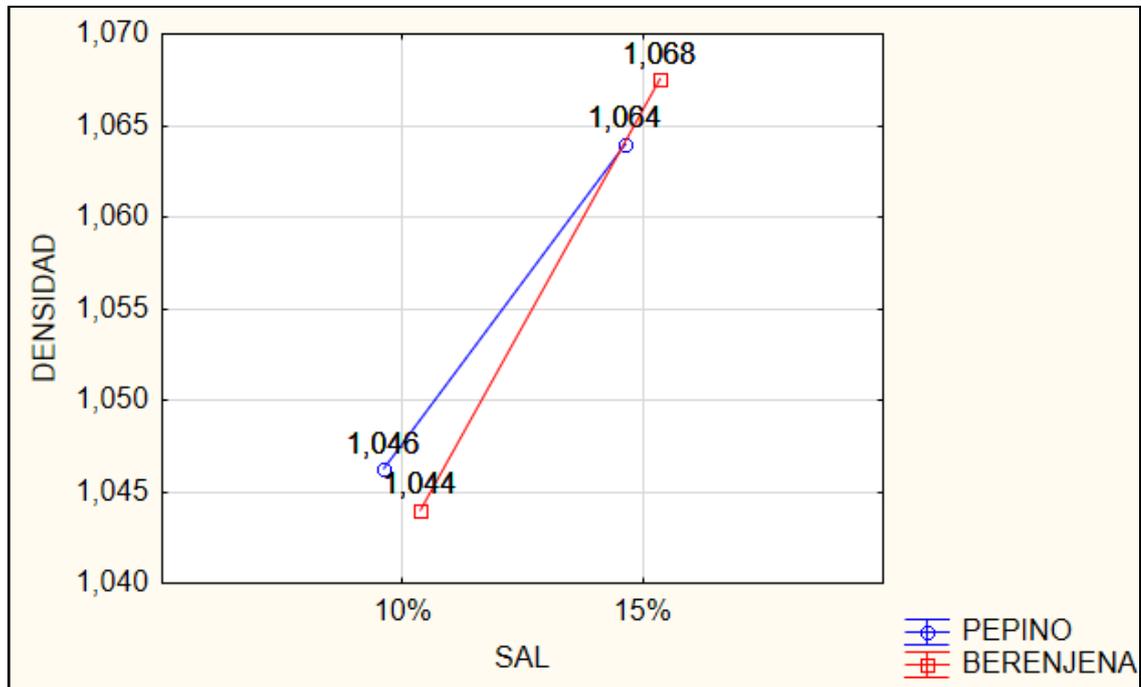


Por último, a lo que respecta el factor B, se determinó diferencia significativa para el porcentaje de cenizas. Tras realizar la prueba de significancia de Tukey ($p < 0,05$), se observó una diferencia apreciable entre ambos grupos, obteniendo un porcentaje de cenizas menor en el encurtido cuando se trató con la salmuera al 10% de NaCl (7,81%) a comparación de la salmuera con un 15% de concentración (11,85%). Al existir menor humedad a mayor concentración de NaCl, aumentará el porcentaje de cenizas, favoreciendo la absorción de sal de la muestra vegetal (Al-Azzawi y Al-Abdullah, 2018).

Prueba de significancia Tukey $p < 0,05$ para la interacción A*B

Figura 12

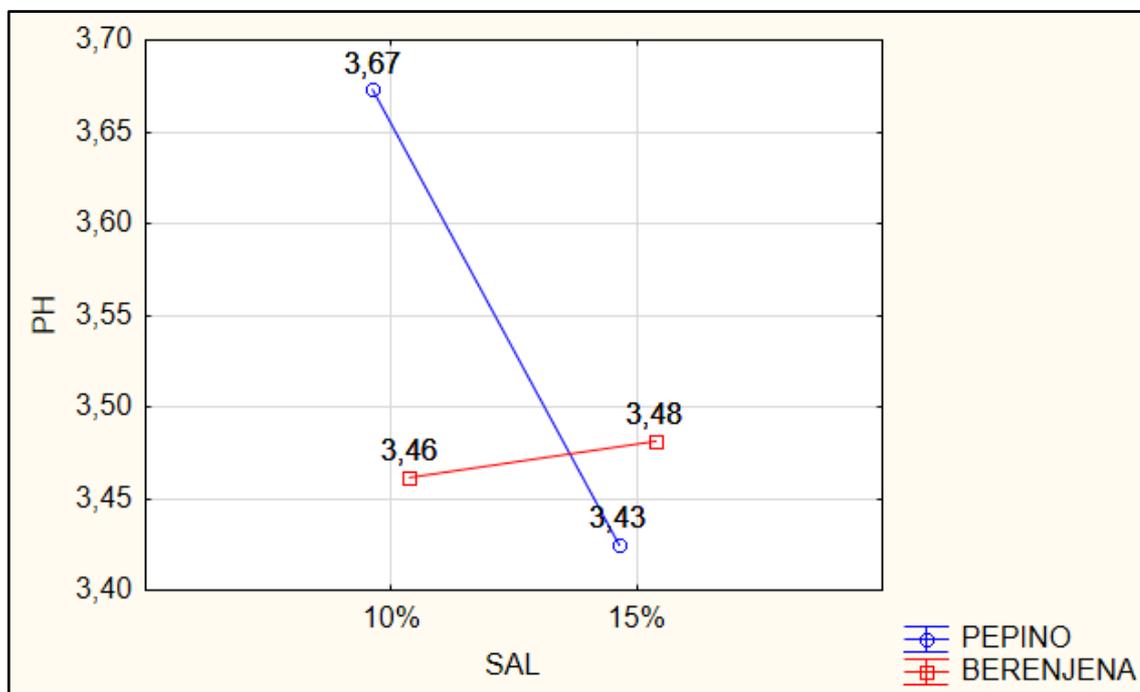
*Estudio del efecto de la interacción A*B (Vegetal: pepino y berenjena; y concentración de NaCl: 10% y 15%) en la densidad.*



Al hablar de la interacción A*B, se evidenció diferencia significativa en el parámetro de densidad. De esta forma, se hallaron 2 grupos homogéneos: A (berenjena, 10% NaCl (1.044); pepino: 10% NaCl (1.047)) y B (pepino, 15% NaCl (1.064); berenjena, 15% NaCl (1.068)). La variación máxima fue de 0.020 ± 0.004 g/ml, que como se mencionó en el factor B, es causada por la concentración final de NaCl, pues los dos tratamientos al 10% de NaCl pertenecieron a un grupo diferente a los tratamientos donde se utilizó una concentración al 15% de NaCl.

Figura 13

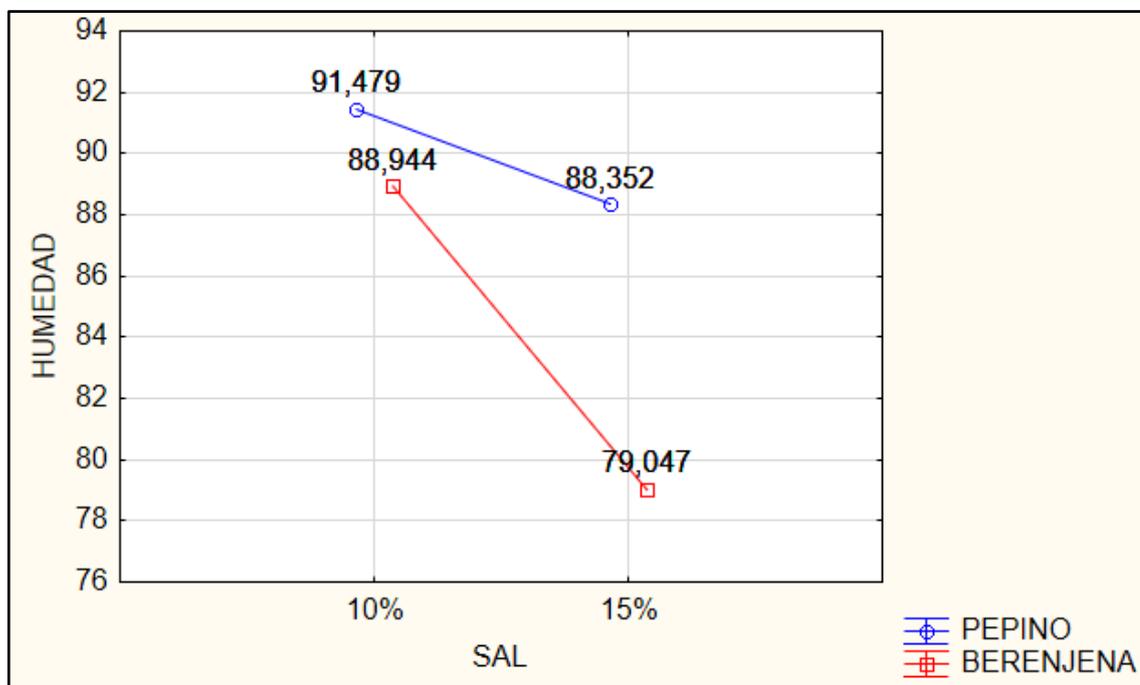
*Estudio del efecto de la interacción A*B (Vegetal: pepino y berenjena; y concentración de NaCl: 10% y 15%) en el pH de la salmuera.*



Respecto al pH, en la figura # se presentan los valores referentes a la prueba de significancia de Tukey ($p < 0,05$), donde se puede observar diferencia significativa en el encurtido de pepino al 10% NaCl (1:1), siendo el único tratamiento que varía del resto y presentando una media de pH de 3.67. Aljahani (2020) encontró valores de pH de 3.30 ± 0.18 en pepino encurtido, similar al encontrado en este estudio en el tratamiento pepino:15% NaCl, donde se obtuvo un pH de 3.43. Así mismo, Aljahani (2020) menciona que las diferencias de pH entre tratamientos pueden ser causadas por variaciones en la composición microbiológica del medio o por las condiciones de tratamiento.

Figura 14

*Estudio del efecto de la interacción A*B (Vegetal: pepino y berenjena; y concentración de NaCl: 10% y 15%) en el porcentaje de cenizas del encurtido vegetal.*



Se observó diferencia significativa en el porcentaje de humedad y se determinaron 3 grupos homogéneos, donde la berenjena al 15% de NaCl (2:2) presentó la media más baja (79,049%) mientras que el pepino al 10% de sal (1:1) presentó la media más alta (91,479%). Uthpala et al (2018) obtuvieron valores de 90.11% y 90.62% en dos variedades de pepino en salmuera al 10% de NaCl tras un mes de fermentación, valores cercanos al obtenido en el estudio (91.48%). Por otro lado, Choi y Cho (2012, p. 216) hallaron un porcentaje de humedad en berenjena de 73.99 ± 0.64 al usar un 5% de NaCl, realizar un secado previo durante 30 minutos y un tiempo de fermentación de 28 días. En este estudio, aún al haber usado concentraciones de sal mayores, la humedad no disminuyó hasta ese nivel (88.35 y 79.05% para berenjena al 10 y 15% de NaCl, respectivamente).

Análisis de componentes principales

Tabla 13

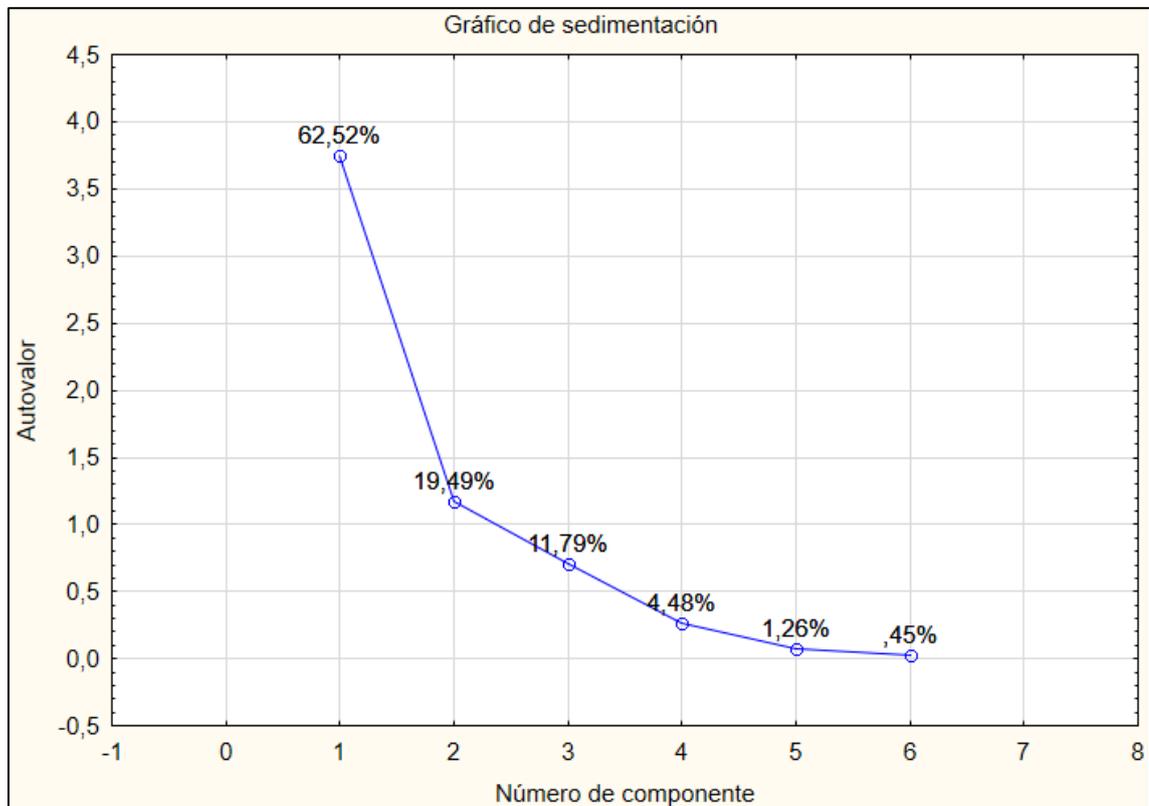
Análisis de componentes principales para los parámetros estudiados.

	SALINIDAD	DENSIDAD	PH	ACIDEZ	HUMEDAD	CENIZAS
SALINIDAD	1,000	0,931	-0,489	0,151	-0,632	0,787
DENSIDAD	0,931	1,000	-0,434	0,105	-0,773	0,826
PH	-0,489	-0,434	1,000	0,008	0,374	-0,636
ACIDEZ	0,151	0,105	0,008	1,000	0,308	-0,050
HUMEDAD	-0,632	-0,773	0,374	0,308	1,000	-0,861
CENIZAS	0,787	0,826	-0,636	-0,050	-0,861	1,000

En la tabla 13 se puede observar la matriz de correlación para componentes principales. Se puede observar correlación positiva entre la densidad y salinidad (0,931), así como entre cenizas y salinidad (0,787); asimismo, se halló correlación inversa entre la humedad y salinidad del encurtido (-0,632). Por otro lado, se determinó correlación entre cenizas y densidad (0,826) de la salmuera, mientras que se halló correlación inversa entre humedad y densidad (-0,773). Como último dato relevante, se encontró correlación inversa entre cenizas y humedad (-0,861).

Figura 15

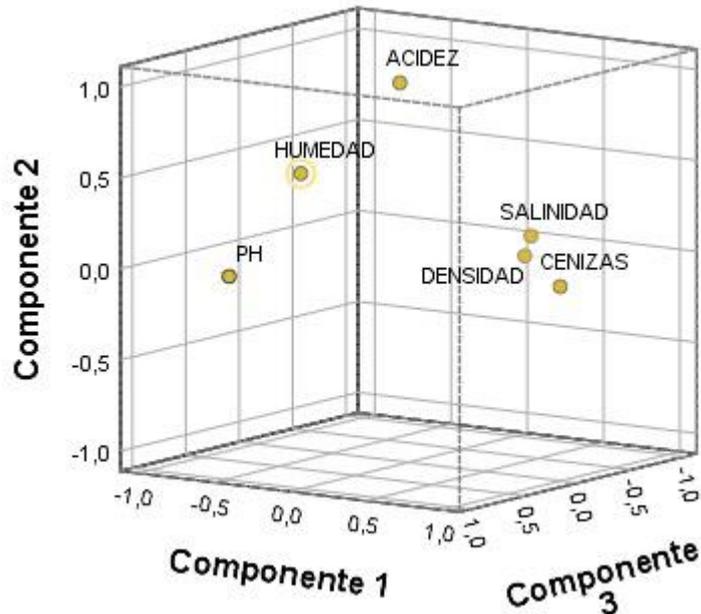
Gráfico de sedimentación de componentes principales para las variables estudiadas en el proceso de elaboración de encurtidos vegetales.



En la figura 15 se puede observar la pendiente que corresponde al nivel de variabilidad de las variables para cada uno de los componentes. De esta forma, la salinidad final (componente 1) es la que más contribuye a la variación de las demás variables con un porcentaje de varianza de 62,52%, mientras que el porcentaje de cenizas (componente 6) es donde existe la menor variabilidad entre variables con un valor de 0,45%.

Figura 16

Estudio de la influencia de las variables del proceso de elaboración de encurtidos vegetales (gráfico de componentes principales).



En la figura anterior se muestra gráficamente cómo se encuentran relacionados los parámetros estudiados. El pH y la humedad son inversamente proporcionales a la densidad, salinidad y el porcentaje de cenizas, mientras que la acidez no ejerce mucha correlación entre las demás variables. Por otro lado, la salinidad, densidad y porcentaje de cenizas son proporcionales, donde las dos últimas mencionadas dependen principalmente de la salinidad del encurtido.

Análisis microbiológico

Para el análisis microbiológico se escogieron los dos mejores tratamientos, uno para pepino y otro para berenjena. Para ello, se tomaron en cuenta parámetros medidos como la salinidad final y el pH de la salmuera. Se escogieron los tratamientos a0b1c0 (Pepino + 15% de NaCl + 2% de *L. plantarum*) y a1b1c0 (Berenjena + 15% de NaCl + 2% de *L. plantarum*). El primer tratamiento mencionado mantuvo un pH de 3.41 y salinidad final de 7.7%, mientras que el segundo mantuvo un pH de 3.39 y de la misma forma, salinidad final de 7.7%.

Tabla 14

Resultados del análisis microbiológico de las muestras de encurtidos vegetales para pepino y berenjena.

Tratamiento	Unidades formadoras de colonias (UFC/ml)			
	Aerobios	Mohos y levaduras	Coliformes	Enterobacterias
a0b1c0	1,42E+06	1,71E+06	0	0
a1b1c0	1,30E+06	1,56E+06	0	0

Se evidenció crecimiento respecto a aerobios. Para el tratamiento a0b1c0 se encontraron 1.42E+06 UFC/ml para aerobios, 1.71E+06 UFC/ml para levaduras y no se hallaron signos de mohos, coliformes ni enterobacterias. Para el tratamiento a1b1c0, se contaron 1.30E+06 UFC/ml para aerobios, 1.56E+06 UFC/ml para levaduras y de la misma forma, no se evidenció crecimiento de mohos, coliformes ni tampoco enterobacterias.

Para determinar el mejor tratamiento para cada vegetal, se analizaron los parámetros de salinidad final y pH. Todos los tratamientos presentan un rango de salinidad final entre el 5-10% y una acidez total 0.5-3.5%, confiriéndoles un sabor característico salado ácido. Así mismo, cada uno de los tratamientos posee un pH inferior a 4.6, lo que la

FAO (2022, pp. 2-3) define como el valor máximo para que los encurtidos puedan conservarse correctamente, mientras que Martínez (1988, pp. 17, 21) menciona que el pH disminuye hasta valores entre 3.4 y 3.8, no debiendo ser superior a 4; respecto a la salinidad, se concluye que a mayor salinidad presente en la salmuera, el riesgo del desarrollo de microorganismos responsables de alteraciones es menor y la firmeza del vegetal es mayor.

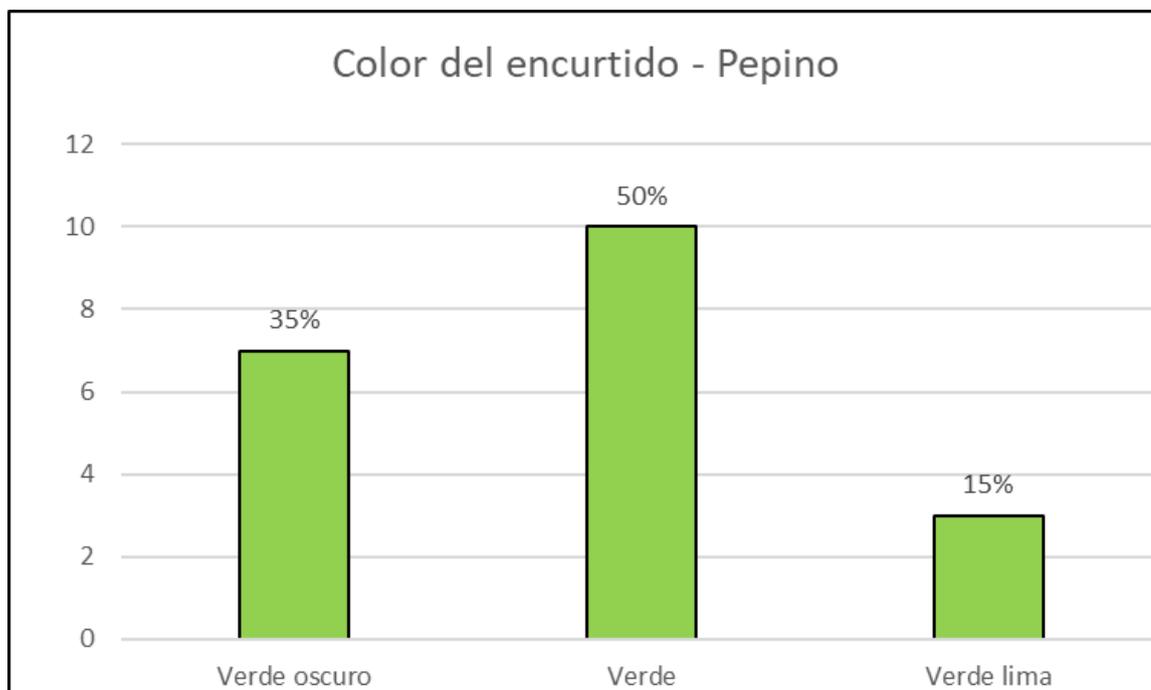
Bajo estas premisas, se seleccionaron los tratamientos con mayor salinidad final en el intervalo 5-10% y menor pH en el intervalo 3.4-3.8. De esta forma, se escogieron los tratamientos a0b1c0 (pepino+15% NaCl+2% *L. plantarum*) con 7.7% NaCl y pH 3.41 y a1b1c0 (berenjena+15% NaCl+2% *L. plantarum*) con 7.6% NaCl y pH 3.54.

Sánchez et al (2015) menciona que para que un producto sea considerado probiótico, debe contener generalmente al menos 10^6 - 10^8 UFC/g del microorganismo referente. Así mismo, la NTE INEN 1334-3 (2011) menciona que para que un alimento se considere dentro de esta categoría, debe contener un número mayor o igual de microorganismos probióticos viables a 1×10^6 UFC/g en el producto hasta el final de su vida útil. Por lo tanto, al encontrar valores dentro de este rango establecido, los tratamientos estudiados son grandes candidatos para ser probióticos viables.

Análisis organoléptico

Figura 17

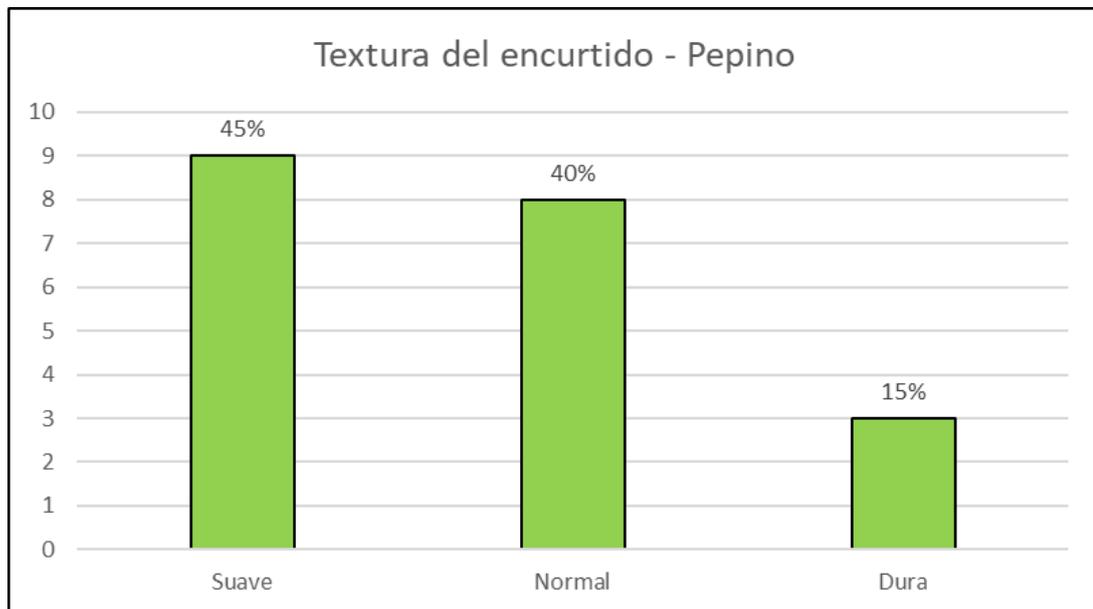
Análisis sensorial (color) para pepino encurtido. figura muestra los resultados obtenidos en el análisis organoléptico para el color del pepino encurtido.



Al hablar del color de los tratamientos de pepino encurtido, el 50% de los encuestados los catalogaron de color verde, mientras que el 35% lo catalogó de color verde oscuro, y como verde lima, el 15%.

Figura 18

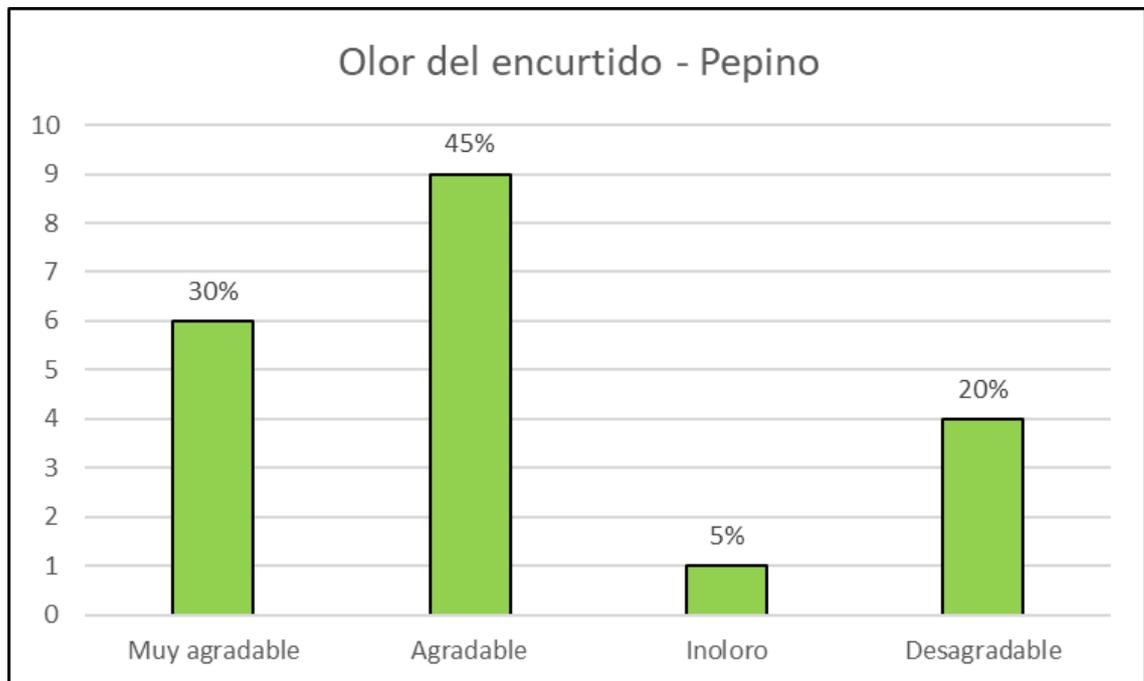
Análisis sensorial (textura) para pepino encurtido.



Al hablar de la textura del encurtido, el 45% de los encuestados mencionaron que éste era suave, mientras que el 40% destacó que se sentía normal y un mínimo porcentaje, el 15%, que el pepino fermentado se encontraba duro.

Figura 19

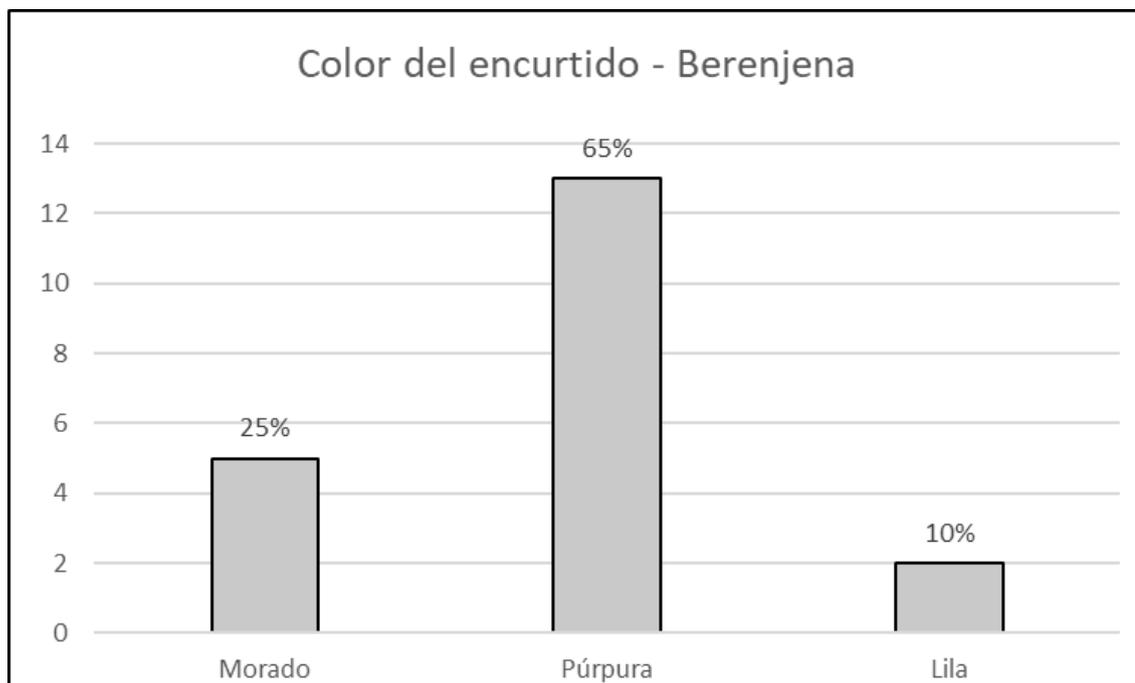
Análisis sensorial (olor) para pepino encurtido.



Para el olor de los encurtidos de pepino, la opción que más destacó fue la de "Agradable" con el 45%, seguido de "Muy agradable" con el 30%, "Desagradable" con el 20% e "inoloro" con el 5%.

Figura 20

Análisis sensorial (color) para berenjena encurtida.

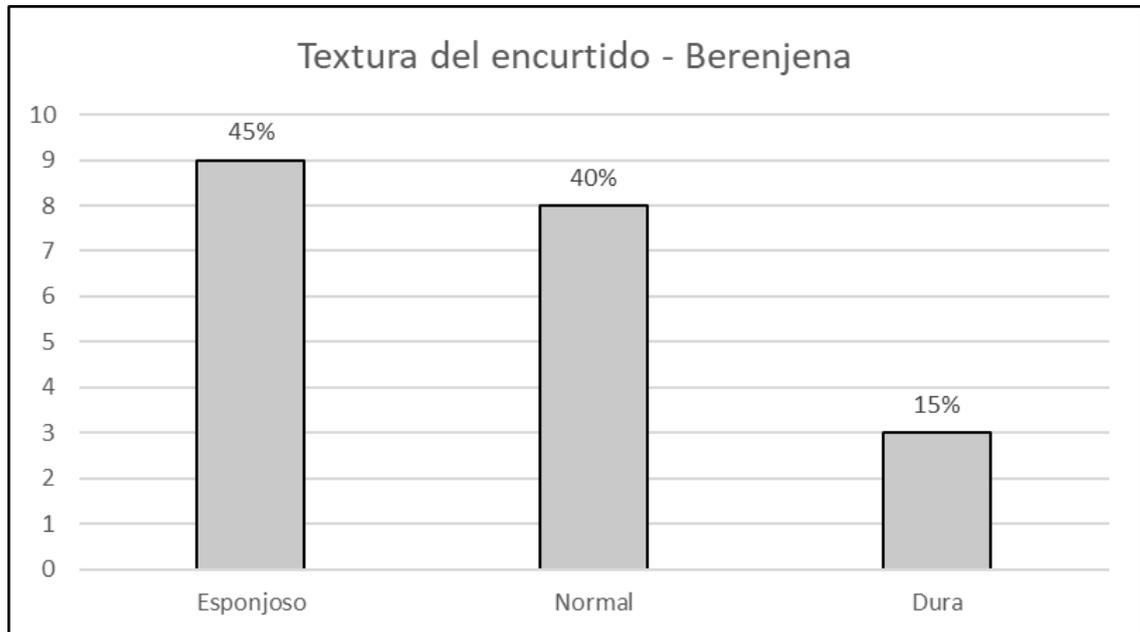


Nota: La presente figura muestra los resultados obtenidos en el análisis organoléptico para el color de berenjena encurtida.

Para el análisis organoléptico del encurtido de berenjena, en el apartado de color, la opción "púrpura" fue la más votada (65%), seguido del morado (25%) y por último, el color lila (10%).

Figura 21

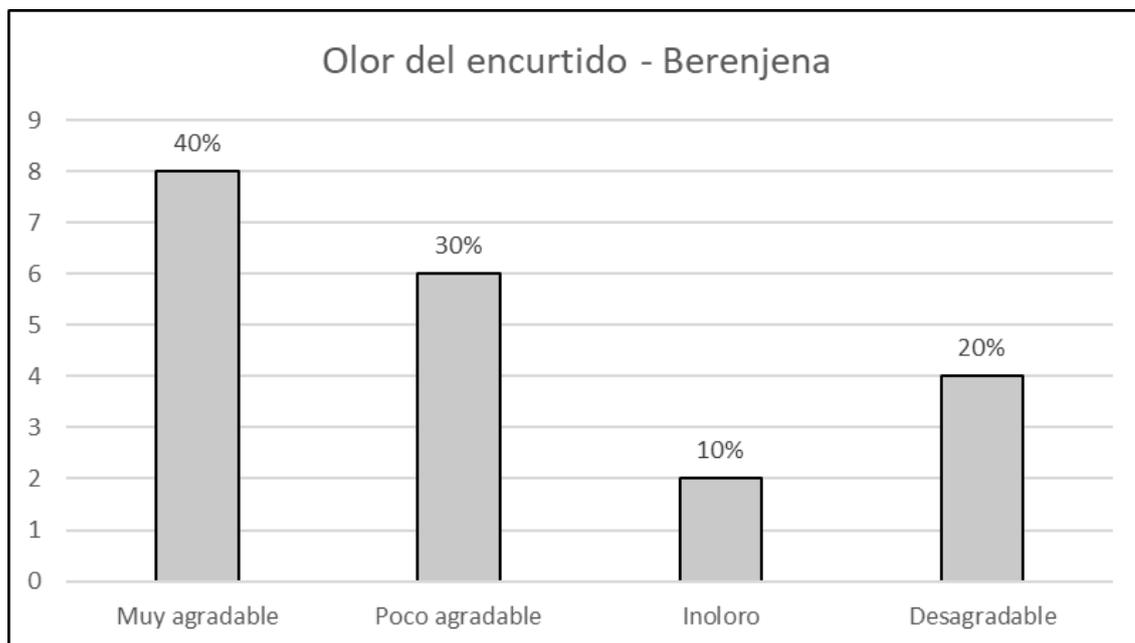
Análisis sensorial (textura) para berenjena encurtida.



En cuanto a la textura del encurtido de berenjena, “esponjoso” fue la opción más destacada con el 45%, seguida de una textura “normal” con el 40% y por última, “dura” con el 15%.

Figura 22

Análisis sensorial (olor) para berenjena encurtida.



Nota: La presente figura muestra los resultados obtenidos en el análisis organoléptico para el color del pepino encurtido.

Por último, para el olor de los encurtidos de berenjena, la opción que más destacó fue la de "Muy agradable" con el 40%, seguido de "Agradable" con el 30%, "Desagradable" con el 20% e "inoloro" con el 10%.

Capítulo V

Conclusiones

Especie vegetal (Factor A)

La especie vegetal influyó en variables como la salinidad final, pH, acidez, porcentaje de humedad y cenizas. La diferencia en el porcentaje de humedad y cenizas se debe por la capacidad del pepino para retener mayor cantidad de agua. En cuestión de pH, la berenjena tiene valores menores, permitiendo una mejor conservación del encurtido. Sin embargo, el pepino obtuvo mayores valores de salinidad final y acidez titulable, permitiendo así mismo una mejor conservación del encurtido y demostrando que la fermentación láctica fue más eficiente en esta especie.

Concentración de NaCl (Factor B)

Respecto a la concentración de NaCl, se pudieron hallar diferencias en la densidad, salinidad final, pH, porcentaje de humedad y de cenizas. La salmuera al 15% NaCl presentó mayores niveles de densidad y salinidad final, así como porcentaje de humedad y de cenizas, demostrando como la ósmosis es capaz de influenciar la capacidad de retención de agua de un vegetal. Mientras tanto, las diferencias de pH fueron respaldados por otros estudios de similar índole.

Concentración de *L. plantarum* (Factor C)

El factor C no influyó de manera alguna sobre los parámetros estudiados. Por obvias razones, la concentración de *L. plantarum* no afecta al porcentaje de humedad ni al porcentaje de cenizas, menos a la densidad o la densidad final. Sin embargo, si este parámetro es revisado junto a otros factores, por ejemplo, el tiempo de fermentación, podrían hallarse diferencias en el pH y/o la acidez.

Efecto de las especies vegetales en la concentración de NaCl (Interacción AB)

Se determinó diferencia significativa en parámetros como la densidad, pH y porcentaje de humedad. La prueba de Tukey ($p < 0.05$) demostró que los vegetales con menor concentración de NaCl poseían menor densidad a comparación de los que presentaban el mayor valor. Todos los tratamientos se hallaron en un nivel de pH 4.6 o menor, valor establecido por la FAO y la NTE-INEN para la conservación de encurtidos, donde solo el tratamiento pepino:10% NaCl se diferenció del resto. Al realizar las pruebas de porcentaje de humedad, se evidenció la drástica disminución de esta variable causada por la alta presencia de NaCl inicial (15%) en la salmuera.

Análisis microbiológico

Para realizar el análisis microbiológico, se analizaron los parámetros físico-químicos de las muestras y se determinaron los mejores tratamientos, usando principalmente el pH y la salinidad final como referencia. De esta forma, se analizaron los tratamientos a0b1c0 (pepino+15% NaCl+2% *L. plantarum*) y a1b1c0 (berenjena+15% NaCl+2% *L. plantarum*) y se determinó que estos cumplen con el nivel mínimo de UFC/ml ($> 10^6$ UFC/ml) del microorganismo probiótico para que puedan ser considerados dentro de esta categoría.

Recomendaciones

Respecto a la especie vegetal, mayor acidez indica más concentración ácido láctico, uno de los componentes principales en este mecanismo de bioconservación e indicador de una óptima fermentación láctica. De la misma manera, mayor salinidad permite una vida útil más larga del alimento, por lo tanto, en este caso concreto de estudio se recomienda firmemente el uso de pepino en encurtidos.

Al tratarse de la concentración de NaCl (Factor B), se recomienda utilizar concentraciones al 15% de NaC en encurtidos, pues esta provee una mayor salinidad y pH final, parámetros sumamente importantes en la conservación del producto.

El factor C (concentración de *L. plantarum*), no jugó un papel significativo en el análisis experimental, por lo tanto, se recomienda utilizar la menor cantidad de inóculo posible, en este caso el 2% de *L. plantarum*.

Tras el análisis microbiológico, se recomienda el consumo de cualquiera de los dos tratamientos estudiados, pues ambos cumplen con el nivel mínimo para ser considerados probióticos y no evidenciaron crecimiento de patógenos.

Bibliografía

Al-Azzawi, A. A., & Al-Abdullah, B. Y. (2019). Study of physico-chemical and nutritional properties of some processed pickles. *Tikrit Journal for Agricultural Sciences* 19(2), 45-54.

Alegre Vilas, I.; Abadias Seró, M.; Colás Medà, P.; Collazo Cordero, C. y Viñas Almena, I. (2020). Bioconservación frente a patógenos de transmisión alimentaria en frutas y hortalizas mínimamente procesadas. *Arbor*, 196 (795): a543.

<https://doi.org/10.3989/arbor.2020.795n1007>

Aljahani, A. H. (2020). Microbiological and physicochemical quality of vegetable pickles. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 19(6), 415-421.

Arroyo, P., Mazquiaran, L., Rodruíguez, P., Valero, T., Ruiz, E., Ávila, J., & Varela, G. (2018). Informe de estado de situación sobre “frutas y hortalizas: nutrición y salud en la España del S. XXI”. *Fundación Española de la Nutrición*.
https://www.fen.org.es/storage/app/media/imgPublicaciones/informe_frutas_y_hortalizas_fen_2018-v1.pdf

Barril, P. A., & Oteiza, J. M. (2020). Seguridad microbiológica de alimentos fermentados.

BIRTH. (n.d.). *BIRTH LH*. 3.4.- Conservación mediante aditivos. Retrieved December 29, 2023, from

https://ikastaroak.ulhi.net/edu/es/COC/SHMA/SHMA03/es_COC_SHMA03_Contenidos/web_site_34_conservacin_mediante_aditivos.html

Bosch Gallego, M., Espadaler Mazo, J., Méndez Sánchez, M., Pérez Carre, M., Farrán Codina, A., Audivert Brugué, S., Bonachera Sierra, M. A., & Cuñé Castellana, J.. (2011). El consumo del probiótico *Lactobacillus plantarum* CECT 7315/7316 mejora el estado de salud general en personas de edad avanzada. *Nutrición Hospitalaria*, 26(3), 642-645. Recuperado en 02 de diciembre de 2023, de

http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112011000300030&lng=es&tlng=es.

Choi, S. A., & Cho, M. S. (2012). Changes in quality characteristics of eggplant pickles by salt content and drying time during storage. *Journal of the Korean Society of Food Culture*, 27(2), 211-224.

Cortés-Sánchez, A., y Recillas-Mota, J. (2015). Alimentos mínimamente procesados de origen vegetal y bioconservación. *Revista Científica de la UNAN-León*, 6 (2), pp. 72-83.

EUFIC. (2022, October 1). *¿Qué son los conservantes y cuáles son los ejemplos comunes que se usan en alimentación?* The European Food Information Council. Retrieved November 24, 2023, from <https://www.eufic.org/es/que-contienen-los-alimentos/articulo/que-son-los-conservantes-y-cuales-son-los-ejemplos-comunes-que-se-usan-en-alimentacion/>

FAO (2022). NORMA PARA PEPINOS ENCURTIDOS (ENCURTIDO DE PEPINOS) CXS 115-1981. *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura*. https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B115-1981%252FCXS_115s.pdf

Fischer, E. (2019, November 11). *Métodos de Conservación de Alimentos - Historia, Técnicas y Clasificación*. Recetas gratis. Retrieved December 5, 2023, from <https://www.recetasgratis.net/articulo-metodos-de-conservacion-de-alimentos-73175.html>

Fuente Salcido, N. M., & Barboza Corona, J. E. (2010). Inocuidad y bioconservación de alimentos. *Acta Universitaria*, 20(1), 43-52.

García, E., Hernández, E., De Paula, C., y Aramendiz, H. (2003). Caracterización bromatológica de la berenjena (*Solanum melongena* L.) en el departamento de Córdoba. *Temas Agrarios*, 8 (1), pp. 27-32.

Heras, I., Alvis, A., & Arrazola, G. (2013). Optimización del proceso de extracción de antocianinas y evaluación de la capacidad antioxidante de berenjena (*Solana melonera* L.). *Información tecnológica*, 24(5), 93-102.

Ibáñez, F., Torre, P., & Irigoyen, A. (2003). Aditivos alimentarios. *Área de Nutrición y Bromatología, Universidad Pública de Navarra*, 3-5.

INEN, N. 1334-3 (2011). Rotulado de productos alimenticios para consumo humano. Parte 3. Requisitos para declaraciones nutricionales y declaraciones saludables. *Instituto Ecuatoriano de Normalización*, 22.

Jorge Martínez, F. (1988). *Fabricación de encurtidos de pepinillo*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Dirección General de Investigación y Capacitación Agrarias. https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1988_06-07.pdf

Kim, B. S., Kang, S. T., Park, K. H., & Hur, J. W. (1999). Studies on the development of processed foods of greenhouse horticultural commodities in the south area-(1) Effect of brine concentration on the quality of cucumber pickle. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 28(2), p390-395.

Lemmel, J. (2008). Conservantes. Tipos y sistemas de conservación. *El Sevier*, 27 (1), pp. 58-64. <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-conservantes-tipos-sistemas-conservacion-13114932#:~:text=Por%20definici%C3%B3n%2C%20las%20materias%20conservantes,llegan%20a%20formar%20parte%20integrante>.

Lindow, A. (2023). El pH de los alimentos - Importancia en la elaboración de conservas. *Gastronomía Solar*. Recuperado de: <https://gastronomiasolar.com/ph-alimentos/>

LIPA (2020). Introducción a la elaboración de conservas. *Universidad Nacional de la Plata*. <https://lipa.agro.unlp.edu.ar/wp-content/uploads/sites/29/2020/03/GUIA-CONSERVAS.pdf>

Martínez, F. J. (1988). *Fabricación de encurtidos de pepinillo* (No. Doc. 23500) CO-BAC, Bogotá). Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Dirección General de Investigación y Capacitación Agrarias.

Meester, E. (2013). *DESARROLLO DE NUEVOS BIOCONSERVANTES APLICABLES A PRODUCTOS LÁCTEOS* Autores: Pilar García, Beatriz Martínez y Ana

Rodríguez. Digital CSIC. Retrieved December 2, 2023, from

https://digital.csic.es/bitstream/10261/8089/3/desarrollo_bioconservantes_Garcia.pdf

Minh NP. Effect of Brine fermented Pickling to Physicochemical, Anti-nutritional, and Microbiological Attributes of Pickled gboma Eggplant (*Solanum macrocarpon*). *J Pure Appl Microbiol.* 2022;16(1):263-275. doi: 10.22207/JPAM.16.1.15

Mondragón Preciado, G., EscalanteMinakata, P., Osuna Castro, J. A., Ibarra Junquera, V., Morlett Chávez, J. A., Aguilar González, C. N., & Rodríguez Herrera, R. (2013). Bacteriocinas: características y aplicación en alimentos. *Investigación y Ciencia*, 21(59), 64-70.

Moran, J. (2022). Estudio del valor agregado a la cosecha del pepino (*Cucumis sativus* L.) [Trabajo de titulación]. Universidad Técnica de Babahoyo, Ecuador.

Moscoso, J. (2017). Bioconservación de embutidos crudos mediante el uso de *Staphylococcus carnosus* y *Lactobacillus plantarum* como cultivos protectores [Tesis de maestría]. Universidad del Azuay, Ecuador.

Oliveira, M., Viñas, I., & Alegre, I. (2013, July 11). *El uso de la bioconservación en frutas y hortalizas mínimamente procesadas (IV Gama)*. Interempresas. Retrieved December 5, 2023, from [https://www.interempresas.net/Horticola/Articulos/111810-El-uso-de-la-bioconservacion-en-frutas-y-hortalizas-minimamente-procesadas-\(IV-Gama\).html](https://www.interempresas.net/Horticola/Articulos/111810-El-uso-de-la-bioconservacion-en-frutas-y-hortalizas-minimamente-procesadas-(IV-Gama).html)

OMS (2023). Aditivos alimentarios. *Organización Mundial de la Salud*. Recuperado de: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-additives>

PAHO. (2015). *PAHO/WHO | Peligros químicos*. Pan American Health Organization. Retrieved December 3, 2023, from https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10849:2015-peligros-quimicos&Itemid=0&lang=en#gsc.tab=0

Pérez Ponce de León, C. O. (2006). Elaboración de salsas picantes típicas por fermentación ácido-láctica [Tesis de grado]. Instituto Tecnológico de Colima, México.

Proaño, J. (2013). 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.). *Investigación Y Desarrollo*, 6(2), 57–63. Recuperado a partir de <https://revistas.uta.edu.ec/erevista/index.php/dide/article/view/59>

Riofrio Pacheco, C. R. (2015). *Estudio de cultivos lácticos y la inulina en la vida útil del yogur de arazá (Eugenia stipitata)* [Tesis de grado]. Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Carrera de Ingeniería en Alimentos.

Sánchez, M. T., Ruiz, M. A., & Morales, M. E. (2015). Microorganismos probióticos y salud. *Ars pharmaceutica (internet)*, 56(1), 45-59.

Uthpala, T. G. G., Marapana, R. A. U. J., & Jayawardana, S. A. S. (2018). Sensory quality and physicochemical evaluation of two brine pickled cucumber (*Cucumis sativus* L.) varieties. *International Journal of Advanced Engineering Research and Science*, 5(3), 237393.

Valero, F. (2022). Manejo agronómico del cultivo de berenjena (*Solanum melongena* L.) en el Ecuador [Trabajo de titulación]. Universidad Técnica de Babahoyo, Ecuador.

Velázquez, J. (s.f.). Problemas de salud ocasionados por los aditivos, preservativos, colorantes y sabores artificiales, hormonas y antibióticos en la alimentación industrial del mundo moderno. *Universidad Interamericana de Puerto Rico*. Recuperado de: https://www2.ulpgc.es/hege/almacen/download/6/6710/Problemas_de_salud_ocasionados_por_los_aditivos.pdf

Vilarrasa, A. (2023). Efectos del encurtido en los vegetales. *Mejor con salud*. Recuperado de: <https://mejorconsalud.as.com/efectos-encurtido-vegetales/>

Waldir, Estela, Rychtera, Mojmír, Melzoch, Karel, Quillama, Elena, & Egoavil, Erida. (2007). Producción de ácido láctico por *Lactobacillus plantarum* L10 en cultivos batch y continuo. *Revista Peruana de Biología*, 14(2), 271-276. Recuperado en 31 de diciembre de

2023, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-99332007000300014&lng=es&tlng=e

Yoo, K. M., Hwang, I. K., Eog, G., & Moon, B. (2006). Effects of Salts and Preheating Temperature of Brine on the Texture of Pickled Cucumbers. *Journal of Food Science*, 71(2), C97–C101. doi:10.1111/j.1365-2621.2006.tb08889.x

Zapata, J., y Castro, G. (1999). *Deshidratación osmótica de frutas y vegetales*. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agrarias.
<https://bibliotecadigital.udea.edu.co/handle/10495/23802>