



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN
ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA



CARRERA DE ALIMENTOS

Desarrollo de una mezcla para bebida instantánea en base a harina pre-cocida de achira (*Canna indica*) enriquecida con probióticos (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus* y *Lactobacillus casei*)

Trabajo de Titulación, Modalidad Proyecto de Investigación previo a la obtención del título de Ingeniero en Alimentos, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autor: Juan Gabriel Albán Rodríguez

Tutor: Ana Gabriela Flores Huilcapi M.Sc.

Ambato - Ecuador

Septiembre - 2023

APROBACIÓN DEL TUTOR

Ana Gabriela Flores Huilcapi M.Sc.

CERTIFICA:

Que el presente Trabajo de Titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Trabajo de titulación, bajo la modalidad de Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 26 de Julio del 2023

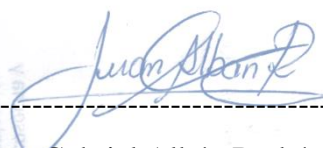
Ana Gabriela Flores Huilcapi M.Sc.

C.I. 0603789744

TUTORA

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Juan Gabriel Albán Rodríguez, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniero en Alimentos, son absolutamente originales, auténticos y personales, a excepción de las citas bibliográficas.

A handwritten signature in blue ink, reading "Juan Gabriel Albán Rodríguez", is positioned above a horizontal dashed line.

Juan Gabriel Albán Rodríguez

C.I. 1804714374

AUTOR

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Por constancia firma:

Presidente de Tribunal

Diego Manolo Salazar Garcés PhD
1803124294

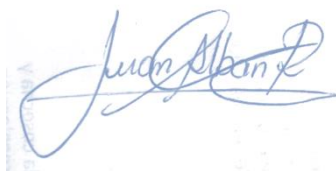
Dra. Mayra Liliana Paredes Escobar
0501873954

Ambato, 25 de Agosto del 2023

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Informe Final de Integración Curricular o parte de él, un documento disponible para su lectura consulta y proceso de investigación según las normas de la Institución.

Cedo los derechos en líneas patrimoniales de mi Informe Final de Integración Curricular, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos como autor.



Juan Gabriel Albán Rodríguez

C.I. 1804714374

Autor

DEDICATORIA

El presente trabajo de titulación lo dedico a mis padres EDUARDO y MAGDALENA, por guiarme, cuidarme, por su apoyo incondicional, su amor y por luchar cada día para que cumpla mi sueño universitario.

A mi hijo MATÍAS quien es mi fortaleza y el motivo para continuar y cumplir mis metas.

A NANCY MANOBANDA quien ha sido un apoyo muy importante durante esta etapa de mi vida.

A mis hermanos DARÍO, MAJO y ANGELITA quienes han estado siempre junto a mí, apoyándome incondicionalmente.

A mi sobrina CAMILA que con sus juegos llena de alegría mi vida.

A mi familia en general y a todos aquellos que de alguna manera contribuyeron en mi formación.

AGRADECIMIENTO

El presente trabajo de titulación me gustaría agradecer principalmente a Dios por sus bendiciones recibidas para lograr este gran sueño.

A la Universidad Técnica de Ambato que juntamente con la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos que me ha permitido culminar mis estudios universitarios.

A todos los docentes de la Carrera de Ingeniería en Alimentos, gracias por compartir sus conocimientos, experiencias y consejos para formar profesionales de bien.

A Alejandra Sánchez y Gabriela Flores, por la confianza depositada en mí para realizar esta investigación, por su apoyo y por sus conocimientos para culminar con éxitos el trabajo de titulación. Les quedo eternamente agradecido.

A la Dra. Mayra Paredes y al Ing. Diego Salazar por su colaboración, tiempo y conocimientos.

A mis amigos por todos los momentos compartidos.

ÍNDICE GENERAL DEL CONTENIDO

APROBACIÓN DEL TUTOR	II
AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	III
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO	IV
DERECHOS DE AUTOR	V
DEDICATORIA	VI
AGRADECIMIENTO	VII
RESUMEN EJECUTIVO	XII
ABSTRACT	XIII
CAPÍTULO I	1
MARCO TEÓRICO	1
ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS	1
1.1. LA ACHIRA (<i>CANNA INDICA</i>)	1
1.1.1. Origen.....	1
1.1.2. Taxonomía.....	1
1.1.3. Descripción botánica.....	2
1.1.4. Crecimiento y desarrollo	2
1.1.5. Contenido Nutricional.....	3
1.1.6. Usos y Aplicaciones de la achira	3
1.2. PROBIÓTICOS	3
1.2.1. Cepas con actividad probiótica	4
1.2.2. Mecanismos de acción	5
1.2.3. <i>Lactobacillus plantarum</i> L.	6
1.2.4. <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	6
1.2.5. <i>Lactobacillus casei</i>	7
1.3. HIPÓTESIS.....	7
1.3.1. Hipótesis nula.....	7
1.3.2. Hipótesis alternativa.....	7
1.4. SEÑALAMIENTO DE VARIABLES DE LA HIPÓTESIS.....	7

1.4.1.	Variable Independiente	7
1.4.2.	Variable Dependiente.....	7
1.5.	OBJETIVOS.....	8
1.5.1.	Objetivo General	8
1.5.2.	Objetivos Específicos.....	8
CAPÍTULO II		9
METODOLOGÍA		9
2.1.	MATERIALES.....	9
2.1.1.	Obtención de la materia prima	9
2.2.	MÉTODOS.....	9
2.2.1.	Elaboración de harina de rizoma de achira (<i>Canna indica</i>).....	9
2.2.2.	Determinar la mezcla óptima entre los probióticos y la harina de achira para la elaboración de una bebida instantánea.....	9
2.2.3.	Análisis sensorial de la bebida de achira con probióticos.....	11
2.2.4.	Análisis proximal de la bebida de achira con probióticos y el contenido de microorganismos viables en el producto final	11
CAPÍTULO III.....		17
RESULTADOS Y DISCUSIÓN		17
3.1.	HARINA DE RIZOMA DE ACHIRA: PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS	17
3.2.	DETERMINAR LA MEZCLA ÓPTIMA ENTRE LOS PROBIÓTICOS Y LA HARINA DE ACHIRA PARA LA ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA INSTANTÁNEA.....	18
3.2.1.	Determinación de la carga de microorganismos viables de la mezcla harina con probióticos.....	18
3.3.	ANÁLISIS SENSORIAL DE LA BEBIDA DE ACHIRA CON PROBIÓTICOS	19
3.4.	ANÁLISIS PROXIMAL DE LA BEBIDA DE ACHIRA CON PROBIÓTICOS	20
3.4.1.	Humedad	20
3.4.2.	Cenizas	21
3.4.3.	Proteína	21
3.4.4.	Densidad.....	22
3.4.5.	Acidez y pH.....	22
3.4.6.	Viscosidad.....	23

3.4.7. °Brix	24
3.4.8. Carga de microorganismos viables de la bebida de achira con probióticos	24
3.5. VERIFICACIÓN DE HIPÓTESIS NULA	25
CAPITULO IV	26
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	26
4.1. CONCLUSIONES	26
4.2. RECOMENDACIONES	27
BIBLIOGRAFÍA.....	28
ANEXOS	32

ÍNDICE DE ECUACIONES

ECUACIÓN 1.....	10
ECUACIÓN 2.....	11
ECUACIÓN 3.....	12
ECUACIÓN 4.....	13
ECUACIÓN 5.....	13
ECUACIÓN 6.....	14
ECUACIÓN 7.....	15
ECUACIÓN 8.....	16

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Valores obtenidos de la caracterización fisicoquímica, mostrados en porcentajes.	17
Tabla 2: formulaciones para preparar bebidas instantáneas	18
Tabla 3. Análisis de varianza del número de microorganismo presentes en las formulaciones.	32
Tabla 4. Análisis de varianza para las tres formulas.....	33
Tabla 5. Análisis sensorial del parámetro de sabor de las tres formulaciones... 	19
Tabla 6. Análisis sensorial del parámetro de aceptabilidad de las tres formulaciones	20

RESUMEN EJECUTIVO

De los tubérculos de achira se obtiene harina y almidón, la harina se usa en la sustitución parcial de harina de trigo para fabricar pan y galletas.

Los probióticos son microorganismos vivos que se administran a un huésped, en cantidades adecuadas generan beneficios para la salud en relación a la microbiota intestinal. Por ello, se ha creado una bebida natural a base de harina de achira enriquecida con probióticos, que a la vez aporten beneficios a la salud al ser un producto funcional.

Para la elección de la mejor formulación se realizó el recuento de microorganismos y el análisis sensorial para las 4 formulaciones estudiadas, cuyos resultados finales acepta la fórmula que contiene 12 por ciento de probióticos es la mayor aceptación, con un valor de proteína 0,267 por ciento, de humedad 90,8 por ciento, de pH 5,47 y 5,9 grados Brix.

El contenido de microorganismos viables en el producto final fue de 2 por 10 elevado a la 9 unidad formadora de colonias por mililitro, por lo cual, se puede decir que el producto puede ser considerado como un alimento probiótico debido a que cumple los parámetros establecidos en la normativa de la OMS, además, de ser un producto funcional.

Palabras claves: probióticos, harinas no convencionales, achira, microorganismos, tubérculos andinos, harinas precocidas.

ABSTRACT

Flour and starch are obtained from achira tubers; the flour is used in the partial substitution of wheat flour to make bread and cookies.

Probiotics are live microorganisms that are administered to a host, in adequate amounts generate health benefits in relation to the intestinal microbiota. Therefore, a natural drink based on achira flour enriched with probiotics has been created, which at the same time provides health benefits as it is a functional product.

In order to choose the best formulation, microorganism counts and sensory analysis were performed for the 4 formulations studied. The final results accepted the formula containing 12 percent probiotics as the most acceptable, with a protein value of 0.267 percent, moisture 90.8 percent, pH 5.47 and 5.9 Brix degrees.

The content of viable microorganisms in the final product was 2 per 10 raised to the colony-forming unit per milliliter, so it can be said that the product can be considered a probiotic food because it meets the parameters established in the WHO regulations, in addition to being a functional product.

Keywords: probiotics, unconventional flours, achira, microorganisms, Andean tubers, precooked flours.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

Antecedentes Investigativos

1.1. La Achira (*Canna indica*)

1.1.1. Origen

Su origen se remonta a los años 2500 a.C. y 4500, debido a que arqueólogos encontraron cultivos de esta planta en América del Sur, específicamente en Perú. Desde aquellos tiempos los nativos lo utilizaban como alimento al tubérculo de la achira (Cabrera et al., 2021). Ocaña, (2019) menciona, que la planta de achira (*Canna indica*) es originaria de América, ya que se la puede encontrar desde los Estados Unidos hasta algunos países del sur de América, además hay datos que indican que también se la consigue en algunos países de Asia. Algunas décadas atrás, solo se consumía el tubérculo, en la actualidad las formas de consumo han cambiado ya que se utiliza todas las partes de la planta de diversas formas (Cabrera et al., 2021). Las hojas son muy utilizadas en la preparación tradicional de alimentos como arepas, quimbolitos, tamales y su tallo es aprovechado como abono verde. Los rizomas son fuentes importantes de energía, debido a su alto contenido de almidones completos y vitaminas (A, C y niacina) y minerales (Calcio, Fósforo, Magnesio, Zinc, Sodio, Potasio, Cobre, Hierro) (Ayala, 2004; Espín, 2001).

1.1.2. Taxonomía

En cuanto a la taxonomía la Achira (*Canna indica*), pertenece al grupo Cannaceas en la que están incluidas, *Canna generalis*, *Canna edulis*, *Canna coccinea*, *Canna iridiflora*, *Canna híbrida*. En las regiones tropicales y subtropicales de América se la conoce también como Canna de indias, Achira, lengua de dragón, sagú o capacho (Morales, 2019).

Descripción taxonómica de la especie *Canna indica* “achira”:

- Reino: Vegetal
- División: Spermatofita

- Clase: Monocotyledonea
- Orden: Scitamineae
- Familia: Cannáceas
- Género: Canna
- Especie: Indica
- Nombres: Común Achira

La achira pertenece a un género único de la familia de las Cannáceas, que fue clasificada como *Canna indica*, por Lineo en 1553 y como *Canna edulis* por Ker Gawler en 1824, denominaciones que son consideradas como sinónimos. La especie *Canna indica* “achira”, es originaria de la zona andina, cuyo vocablo es de origen quechua (Arcos, 2015).

1.1.3. Descripción botánica

Esta planta es una herbácea pertenece a las zonas húmedas y presentan las siguientes características. La achira contiene rizomas que aparecen entre los 10 a 12 meses una vez que la planta alcanza su madurez, son raíces cortas, de forma cilíndrica y de color blanco, que pueden llegar a medir entre 5 a 30 cm de largo y 10 cm de diámetro (Rodríguez et al., 2003). La raíz está compuesta por 88,7% de humedad, 75,4% de carbohidratos, 9,17% de proteínas, 4,81% de cenizas y 5,86 % de fibra. La achira se puede reproducir a través de sus rizomas, las cuales son trasplantadas a un nuevo lugar y de estas brotan las nuevas yemas (Tiuquina, 2017).

1.1.4. Crecimiento y desarrollo

La achira se desarrolla en tres etapas de crecimiento y desarrollo en consideración al rizoma.

- Primera etapa: El crecimiento de la achira llega a durar tres meses, en donde el tallo crece al igual que las raíces.
- Segunda etapa: Esta llega a durar entre seis a nueve meses logrando desarrollar los rizomas.
- Tercera etapa: Es cuando comienza a envejecer y se desarrollan las yemas secundarias para producir nuevos tallos (Caicedo Díaz et al., 2003).

1.1.5. Contenido Nutricional

La achira presenta un alto valor nutricional en sus tubérculos los análisis realizados por Arcos, (2015) presentan los siguientes resultados:

- Energía (Kcal): 101 blanca / 98 morada.
- Proteína (g): 1,40 / 1,40.
- Grasa total (g): 0,10 / 0,10.
- Carbohidratos (g): 23,80 / 23,80.
- Vitaminas (mg): C: 0,70 / 0,10.
- Minerales (mg): Calcio: 13 / 17; Hierro: 0,70 / 1,40.

1.1.6. Usos y Aplicaciones de la achira

La achira desde tiempos ancestrales se la utiliza para la alimentación humana, en la actualidad se está buscando la forma de introducirla a la agroindustria debido a sus propiedades benéficas para producir un alimento con un contenido nutricional alto. De la achira se aprovecha toda la planta, por ejemplo: las hojas recién cortadas son utilizadas en las quemaduras para refrescar, aliviar y disipar el exceso de calor de la piel quemada, las semillas se emplean en la confección de collares y sonajeros. Las hojas también se utilizan como un empaque natural al envolver comidas típicas como los tamales. (EcuRed, 2016).

Los tubérculos que producen la achira son los que tienen mayor valor industrial ya que de ahí se obtiene el almidón y la harina, que pueden ser empleadas en la elaboración de productos de consumo diario (Andrade et al., 2012). El almidón que es extraído del tubérculo de la achira cuenta con propiedades únicas como el alto porcentaje de amilasa. Considerando que el almidón es de fácil digestión, la harina se usa en la sustitución parcial de trigo para fabricar pan y galletas (Cabrera et al., 2021). La harina y el almidón de achira poseen características espesantes, gelificantes, ligantes y estabilizantes (Caicedo Díaz et al., 2003).

1.2. Probióticos

Se les considera como probióticos a los microorganismos vivos que se administran a un huésped en cantidades adecuadas para generar beneficios a la salud, en relación

de la microbiota intestinal ya que funciona como su alimento y así mejoran la absorción de los nutrientes. Las bacterias son los probióticos más estudiados, entre las principales representantes se encuentran las bacterias ácidas lácticas (BAL), además, se consideran algunos mohos y levaduras que poseen un potencial probiótico adecuado para el ser humano (Georgieva et al., 2009). Entre los beneficios que pueden proporcionar los probióticos al momento de consumirlos son: el mantener el equilibrio del microbioma intestinal, estimular el sistema inmune, inhibir el crecimiento de bacterias patógenas, aumentar la resistencia a la infección, reducir el colesterol, sintetizar y mejorar la biodisponibilidad de nutrientes, reducir el efecto de los alérgenos, aliviar la intolerancia a la lactosa y promover una buena digestión (Parra, 2010).

Existen alimentos considerados como funcionales o suplementos que ayudan a la dieta diaria, cuando se utiliza probióticos este alimento forma parte de estos, ya que contribuyen al mejoramiento de la salud del consumidor. Además, con el consumo más frecuente de estos alimentos ayuda a la prevención y alivio de enfermedades gastrointestinales. Actualmente, los probióticos se han convertido en una alternativa para mitigar el efecto negativo de los antibióticos, que se utilizan para el tratamiento de enfermedades infecciosas, ya que ayuda a la restauración de la microbiota intestinal (Corrales & Palacios, 2020).

Actualmente, para que un microorganismo pueda considerarse como probiótico, debe mantenerse a una concentración viable de $>10^6 - 10^8$ CFU/g o $>10^8 - 10^{10}$ UFC/dosis (Serrano et al., 2015), esta cantidad varía de un país a otro en función de su legislación, sin embargo, no existen normativas ecuatorianas INEN específicas para estos productos por lo que se toma como referencia las cantidades establecidas por la Food and Drug Administration (FDA).

Por lo señalado anteriormente, es necesario que el microorganismo probiótico soporte condiciones adversas como la acidez del estómago y el trayecto por el tracto gastrointestinal para que pueda llegar de manera viable al colon que es el sitio de acción.

1.2.1. Cepas con actividad probiótica

Como se mencionó anteriormente, la mayoría de los probióticos son bacterias, entre las cuales las bacterias ácido lácticas (BAL) son las más comunes. Los géneros que

comúnmente son utilizados como probióticos en los alimentos pueden ser las bacterias: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Propionibacterium*, *Leuconostoc* y especies de *Bacillus*, levaduras como *Saccharomyces*, y hongos como *Aspergillus* (Parra, 2010).

Para seleccionar la cepa correcta que actúe como un buen probiótico debe cumplir ciertos parámetros específicos como: ser no patógeno y no tóxico, ser un organismo que sea capaz de ejercer un efecto beneficioso sobre los huéspedes, sobrevivir y metabolizarse en el entorno intestinal al resistir el bajo pH de todo el tracto digestivo y ser estable en condiciones de almacenamiento (Marquez Urrizola, 2011).

1.2.2. Mecanismos de acción

Uno de los mecanismos de acción de los probióticos está dado por la producción de sustancias antimicrobianas que logren la prevención y tratamiento de infecciones del tracto digestivo. Otra forma en la que actúan los probióticos son en la inhibición de la adherencia epitelial y de la mucosa por parte de los patógenos (Janković et al., 2012). Además, con el aumento del valor nutricional de los alimentos ayuda a la falta de nutrientes limitados. Los microorganismos probióticos que aplican el mecanismo de secreción de sustancias antimicrobianas generalmente producen ácidos orgánicos, peróxido de hidrógeno, bacteriocinas y biosurfactantes, que ayudan a la inhibición del crecimiento de bacterias patógenas que causan principalmente infecciones estomacales (Guarner, 2020).

El antibiótico reuterina (3-hidroxi propionaldehído) es conocido por ser de amplio espectro, ataca a bacterias Gram positivas y Gram negativas, también puede ser efectivo contra levaduras, hongos y virus. Investigaciones señalan que el *Lactobacillus reuteri* lo produce en cantidades adecuadas, igualmente, el *Lactobacillus spp* produce una variedad de sustancias que inhiben el crecimiento de bacterias Gram positivas y Gram negativas. Las sustancias inhibidoras incluyen bacteriocinas, peróxido de hidrógeno y ácidos orgánicos. Siendo las bacteriocinas un mecanismo de defensa importante contra microorganismos patógenos (Castañeda, 2021).

Por ejemplo, la cepa UCC118 de *Lactobacillus salivarius* produce la bacteriocina de amplio espectro de clase II Abp118 producida cuya principal característica de

protección fue comprobada en ratones con infección ocasionada por la *Listeria monocytogenes* que es transmitida por alimentos. Con relación a lo antes mencionado se puede decir que, al liberar compuestos antimicrobianos, los probióticos pueden suprimir el crecimiento de patógenos consumidos por los alimentos contaminados. En cambio, la producción de ácidos orgánicos que principalmente son el ácido láctico y acético, que ayudan en la reducción del pH intestinal lo que conlleva a la reducción de colonias por patógenos (Arévalo, 2009).

1.2.3. *Lactobacillus plantarum* L.

Este tipo de *Lactobacillus* predominan en la microbiota intestinal, existen más de 185 cepas descubiertas de estos microorganismos. Además, esta especie de *Lactobacillus* tiene una gran variedad de nichos ecológicos como vegetales, alimentos fermentados y mucosa intestinal de un ser humano sano (Georgieva et al., 2009). Se los utiliza con frecuencia en la industria alimentaria y farmacéutica como cultivos iniciadores o probióticos gracias a su beneficio para la salud del ser humano. Es utilizado para tratar enfermedades como el síndrome del intestino irritable, cáncer, enfermedad coronaria y ciertos síntomas gastrointestinales (Le & Yang, 2018).

1.2.4. *Lactobacillus rhamnosus*

Fue descubierta por Sherwood Gorbach y Barry Goldwin quienes aislaron la cepa de muestras fecales humanas, por lo que se considera una cepa probiótica gracias a su resistencia al ácido y la bilis del tracto digestivo, además, tienen la capacidad de adhesión a la capa epitelial intestinal (Yli-Knuuttila et al., 2006). Con el descubrimiento de estos benéficos por parte de estos microorganismos, por lo que se han realizado estudios con la ayudada de ensayos clínicos y estudios de intervención humana (Banna et al., 2017). Su acción probiótica puede excluir o inhibir los patógenos, ya sea por acción directa o por influencia sobre el microbiota comensal, otra acción probiótica es ayudar al mejoramiento de la función de barrera epitelial, también pueden modular las respuestas inmunitarias del huésped (Verdenelli et al., 2009).

1.2.5. *Lactobacillus casei*

La taxonomía de estos microorganismos depende principalmente de rasgos morfológicos, fisiológicos y bioquímicos del grupo *L. casei* por lo que se ha modificado en numerosas ocasiones (Alok et al., 2021). En las listas aprobadas de nombres bacterianos, *L. casei* se describe como una sola especie con cinco subespecies sobre la base de características fenotípicas: *L. casei* subsp. *casei*, *L. casei* subsp. *alactosus*, *L. casei* subsp. *pseudopantarum*, *L. casei* subsp. *tolerans* y *L. casei* subsp. *Ramnosus* (Hill et al., 2018). Se utilizan en la producción de muchos productos alimenticios en la industria alimentaria, el genotipado molecular es crucial para determinar su evolución y filogenia. El consumo regular de esta cepa ayuda en la preservación de la diversidad gastrointestinal y previene la disbiosis gastrointestinal y el estrés fisiológico, además de contener una gran cantidad de grupos de genes de utilización de carbohidratos, lo que permite la supervivencia y la adaptación en varios entornos diferentes (Huang et al., 2018).

1.3. Hipótesis

1.3.1. Hipótesis nula

H0: La harina instantánea de achira con probióticos no presenta la cantidad adecuada de microorganismos.

1.3.2. Hipótesis alternativa

H1: La harina instantánea de achira con probióticos presenta la cantidad adecuada de microorganismos.

1.4. Señalamiento de variables de la hipótesis

1.4.1. Variable Independiente

Harina instantánea de achira

1.4.2. Variable Dependiente

Cantidad de microorganismos probióticos presentes.

1.5. Objetivos

1.5.1. Objetivo General

Desarrollar una mezcla para bebida instantánea en base a harina pre-cocida de achira (*Canna indica*) enriquecida con probióticos (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus* y *Lactobacillus casei*).

1.5.2. Objetivos Específicos

- Determinar la mezcla óptima entre los probióticos y la harina de achira para la elaboración de una bebida instantánea.
- Evaluar la calidad sensorial de la bebida de achira con probióticos.
- Realizar el análisis proximal de la bebida de achira con probióticos y el contenido de microorganismos viables en el producto final.

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1. MATERIALES

2.1.1. Obtención de la materia prima

Los rizomas tuberosos de Achira (*Canna indica*) se compraron en la ciudad de Patate –Tungurahua, los probióticos (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus* y *Lactobacillus casei*) se adquirieron a la empresa LIFECARE y fueron importados al país.

2.2. MÉTODOS

2.2.1. Elaboración de harina de rizoma de achira (*Canna indica*)

Para la elaboración de harina se utilizó el método descrito por Ocaña, (2019). Los rizomas fueron seleccionados y sometidos a un procedimiento de limpieza y desinfección en una solución de hipoclorito de sodio (5,25%), posteriormente se cortaron en rodajas de aproximadamente 2 mm de espesor, se colocaron en bandejas de aluminio, seguido se sometió a un proceso de deshidratación a 60 °C con circulación de aire caliente por un tiempo de 24 horas hasta que la humedad sea menor al 14%. Finalmente, las muestras deshidratadas fueron trituradas en un molino y envasadas hasta su posterior utilización.

2.2.2. Determinar la mezcla óptima entre los probióticos y la harina de achira para la elaboración de una bebida instantánea.

La determinación de la mezcla óptima de harina de achira y probióticos se realizó a través de un diseño experimental AxB; donde el factor A corresponderá a la cantidad de harina de achira (85, 88, 90, 92%) y el factor B será el porcentaje de probióticos liofilizados que se añadió (15, 12, 10, y 8%).

Como respuesta experimental se tomó la carga de microorganismos viva del producto final. Y se aplicó el método experimental para comprobar los efectos de intervención entre los factores de estudio (Macías & Espinoza, 2022).

Mediante los resultados obtenidos del diseño experimental, se seleccionó los tratamientos adecuados que cumplan con el rango mínimo de microorganismos que

es de 10^6 UFC/ mL o g establecido por la Food and Drug Administration (FDA) (Castillo et al., 2019).

2.2.2.1. Determinación de la carga de microorganismos viables de la mezcla de harina con probióticos.

El recuento microbiano se realizó en base a la norma INEN 1529 “Control Microbiológico de los Alimentos”.

Cada dilución se elaboró por triplicado. En cada una de las cajas Petri bien identificadas se depositó 1 ml de cada dilución. Se empleó una pipeta esterilizada para verter en cada una de las placas inoculadas aproximadamente 20 ml de agar para recuento en placa – PCA, fundido y llevado a $45^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Cuidadosamente se mezcló el inóculo de siembra con el medio de cultivo. Se dejó en reposo las placas para que se solidifique el agar y se incubarán a $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 48 a 75 horas. Se seleccionó las diluciones 6 y 9 que presentaron entre 15 y 300 colonias, se contó todas las colonias que hayan crecido en el medio, incluso las más pequeñas, teniendo cuidado de no confundirlas con partículas de alimentos o precipitados. Finalmente se anotó el número de colonias y la respectiva dilución.

Cálculos:

Se calculó el número N de microorganismo por gramo o ml del producto como la media ponderada de dos diluciones, utilizando la siguiente fórmula:

Ecuación 1.

$$N = \frac{\Sigma c}{V(n_1 + 0.1n_2)d}$$

En donde:

Σc = Suma de todas las colonias contadas en todas las placas seleccionadas

V = Volumen inoculado en cada caja Petri

n_1 = Número de placas de la primera dilución seleccionada

n_2 = Número de placas de la segunda dilución seleccionada

d = Factor de dilución de la primera dilución seleccionada (d = 1 cuando se ha inoculado muestra líquida sin diluir).

La preparación de la muestra se realizó según los procedimientos indicados en la norma NTE INEN 1 529-2

2.2.3. Análisis sensorial de la bebida de achira con probióticos

Las muestras se evaluaron con un panel de 20 personas que previamente recibieron una inducción sobre el ensayo (panel no entrenado). Se realizó una prueba de aceptación con una escala hedónica de 5 puntos y se evaluarán los parámetros de sabor, olor, color, viscosidad y aceptabilidad.

2.2.4. Análisis proximal de la bebida de achira con probióticos y el contenido de microorganismos viables en el producto final

2.2.4.1. Determinación Humedad

Se empleó la metodología descrita por Olvera et al., (1993), en la cual se pesó alrededor de 10 g de la muestra previamente homogenizada, posteriormente se colocó la muestra en un horno a 105°C por un mínimo de 12 horas, transcurrido el tiempo indicado se dejó enfriar la muestra en un desecador. Finalmente, se pesó otra vez evitando que la muestra no esté expuesta a la humedad del ambiente.

Cálculos

Ecuación 2

$$\text{contenido de humedad \%} = 100 \left(\frac{((B - A) - (C - A))}{(B - A)} \right)$$

Dónde:

A = Peso de la charolilla seca y limpia (g)

B = Peso de la charolilla + muestra húmeda (g)

C = Peso de la charolilla + muestra seca (g)

2.2.4.2. Determinación de Cenizas

El método que se empleó para determinar el contenido de cenizas de la bebida y sus ingredientes fue la calcinación. Las cenizas se consideran como el contenido de minerales totales o material inorgánico en la muestra. Para ello se empleó un crisol de porcelana que previamente se colocó en la estufa hasta que alcanzó un peso

constante, se colocó 5g de muestra y se llevó a la mufla para calcinarlo a 550°C por 12 horas, se dejó enfriar en un desecador y nuevamente se pesó el crisol que contiene las cenizas (Olvera et al., 1993).

Cálculos

Ecuación 3

$$\text{contenido de ceniza \%} = 100 \left(\frac{(A - B)}{C} \right)$$

A = Peso del crisol con muestra (g)

B = Peso del crisol con ceniza (g)

C = Peso de la muestra (g)

2.2.4.3. Determinación de Proteínas

El contenido de proteína se determinó empleando el método de KJELDAHL (IDT), descrito en NTE INEN-ISO 20483, (2013). Se pesó 1g de muestra de bebida de achira y se colocó en el matraz Kjeldahl, tras de ellos se agregó 10g y 0.70g de sulfato de potasio y óxido de mercurio respectivamente, finalmente se vertió en el matraz 20 ml de ácido sulfúrico concentrado. La solución se llevó a ebullición en el digestor hasta que la solución se tornó clara y posteriormente se continuó calentando por media hora.

Transcurrido el tiempo de calentamiento se dejó enfriar e incorporando poco a poco una solución 90 ml de agua destilada y desionizada, una vez fría la mezcla se añadió 25 ml de solución de sulfato de sodio.

Se colocó una perla de ebullición y 80 ml de la solución de hidróxido de sodio al 40%, se formaron dos capas, seguidamente se conectó el matraz a la unidad de destilación, caliente y colectando 50 ml del destilado conteniendo el amonio en 50 ml de solución indicadora.

Al terminar de destilación, se removió el matraz receptor, enjuagando la punta del condensador y titulado con la solución estándar de ácido clorhídrico.

Cálculos:

Ecuación 4

$$\text{nitrogeno de la muestra \%} = 100 \left[\left(\frac{A \cdot B}{C} \right) \cdot 0.014 \right]$$

Proteína cruda (%) = Nitrógeno en la muestra * 6.25

A = Ácido clorhídrico usado en la titulación (ml)

B = Normalidad del ácido estándar

C = Peso de la muestra (g)

2.2.4.4. Determinación de Densidad

Para la medición de densidad de la bebida de achira se empleó el método del picnómetro descrito por Huerta, (2015). Para ello se pesó el picnómetro vacío de 25 ml, a continuación, se pesó el picnómetro enrasado con agua y el picnómetro enrasado con la bebida de achira, estos pesos fueron empleados en la ecuación 5.

Cálculos

Ecuación 5

$$\rho_d = \frac{m_{p+d} - m_p}{m_{p+w} - m_p} \cdot \rho_w$$

Donde:

m_p = masa del picnómetro vacío

$m_p + w$ = masa del picnómetro enrasado con agua

$m_p + d$ = masa del picnómetro enrasado con disolución

ρ_w = densidad del agua = $1 \frac{g}{ml}$

2.2.4.5. Determinación de Acidez

Se determinó mediante el método de titulación descrito en INEN-ISO 750, (2013), se empleó una solución volumétrica patrón, (NaOH) = 0,1 mol/l, soluciones buffer de pH conocido y cuatro gotas fenolftaleína (10 g/l de solución en etanol al 95%) que actuó como indicador de cambio, utilizados en 10ml de la bebida de achira. Al momento de la titulación se mantuvo una agitación constante para que garantice una homogenización correcta, una vez que se observó cambio en la coloración se cerró la llave de la bureta y se tomó lectura a la solución alcalina gastada.

Se utiliza la siguiente ecuación:

Ecuación 6

$$\% \text{ Acidez} = \frac{(0.064)(\text{Normalidad del NaOH})(\text{ml utilizado de NaOH})}{\text{ml de la muestra}} \cdot 100$$

2.2.4.6. Determinación de pH

Se determinó mediante el método descrito por NTE INEN-ISO 1842, (2013), en el cual se empleó el pH-metro, con una escala graduada en 0.05 unidades de pH y 25 ml de muestra.

2.2.4.7. Determinación de Viscosidad

La viscosidad de la bebida de harina con probióticos se determinó según la NTE INEN 810, (1986). Se llenó el bulbo del viscosímetro capilar con agua destilada, registrando la temperatura. Con la ayuda de una pera de succión se desplazó el agua hasta que rebase la marca superior del brazo del viscosímetro que contiene el capilar, seguidamente se retiró la pera de succión para que el agua fluya y se registró con el cronómetro el tiempo que tarda en pasar entre las dos marcas del viscosímetro. Para evitar errores se enjuaga el capilar dos veces con la bebida para eliminar todo rastro de agua. Finalmente se repite los pasos anteriores con la bebida.

Ecuación 7

$$\eta = k \cdot t$$

Donde:

k = constante del viscosímetro

t = tiempo que transcurre la muestra fluye a través del capilar

2.2.4.8. Determinación de °Brix

Se determinó mediante el método descrito por NTE INEN 273, (1990), con la utilización de un Brixómetro, en el que se colocó una pequeña cantidad de muestras de materia prima para posteriormente dar lectura de la muestra.

2.2.4.9. Determinación de la carga de microorganismos viables de la bebida de achira.

El recuento microbiano se realizó en base a la norma INEN 1529 "Control Microbiológico de los Alimentos".

Cada dilución se elaboró por triplicado. En cada una de las cajas Petri bien identificadas se depositó 1 ml de cada dilución. Se empleó una pipeta esterilizada para verter en cada una de las placas inoculadas con aproximadamente 20 ml de agar para recuento en placa-PCA, fundido y llevado a $45^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Cuidadosamente se mezcló el inóculo de siembra con el medio de cultivo. Se dejó en reposar las placas para que se solidifique el agar y se incubarán a $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 48 a 75 horas. Se seleccionó las placas de dos diluciones las diluciones 6 y 9 que presentaron entre 15 y 300 colonias y utilizando un contador de colonias, se contó todas las colonias que hayan crecido en el medio, incluso las más pequeñas, teniendo cuidado de no confundirlas con partículas de alimentos o precipitados. Finalmente se anotó el número de colonias y la respectiva dilución.

Se toma en cuenta la bebida de mayor aceptación.

Cálculos

Se calculó el número N de microorganismo por gramo o ml del producto como la media ponderada de tres diluciones sucesivas utilizando la siguiente fórmula:

Ecuación 8

$$N = \frac{\Sigma c}{V(n_1 + 0.1n_2)d}$$

En donde:

Σc = Suma de todas las colonias contadas en todas las placas seleccionadas

V = Volumen inoculado en cada caja Petri

n_1 = Número de placas de la primera dilución seleccionada

n_2 = Número de placas de la segunda dilución seleccionada

d = Factor de dilución de la primera dilución seleccionada ($d = 1$ cuando se ha inoculado muestra líquida sin diluir).

La preparación de la muestra se realizará según los procedimientos indicados en la norma **NTE INEN 1 529-2**

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Harina de rizoma de achira: propiedades fisicoquímicas

En la Tabla 1 se muestran los resultados obtenidos en la caracterización de la harina de Achira. Los parámetros evaluados fueron humedad, proteínas y cenizas.

Tabla 1. Valores obtenidos de la caracterización fisicoquímica, mostrados en porcentajes.

Parámetros	Porcentaje (%)
Humedad	7,75± 0,15
Proteína	5,11± 0,11
Cenizas	7,89± 0,9

La harina obtenida del rizoma de achira fue tamizada con un mesh número 60 (0,25 mm) para obtener un alto grado de uniformidad granulométrica. Las harinas tamizadas tienen una mejora notable en la calidad sensorial especialmente en las características de textura, sabor y apariencia visual del producto final (Pacheco et al., 2008). También, presentó una humedad de 7,75± 0,15 % que se encuentran dentro del valor establecido para harinas que debe ser <14% NTE INEN 0616, (2006), aunque Ocaña, (2019) reportó un valor de 5,99 ± 0,12, pero el valor reportado por Pacheco et al., (2008) es similar al valor obtenido con un valor del 7,13%, estos valores pueden variar por el tipo de secado o las condiciones ambientales en el momento del análisis.

Para los valores de proteína y ceniza de la harina de achira fueron de 5,11± 0,11 y 7,89± 0,9 respectivamente, según la NTE INEN 0616, (2006) establece que se debe tener en la harina un mínimo de 10% de proteína y de cenizas no mayor al 0,75%, pero cabe recalcar que estos valores son establecidos para la harina de trigo, se los toma para comparar debido a que no existen normas para las harinas resultantes de cultivos andinos. Por ello Ocaña, (2019) en su investigación establece un valor de proteína para la harina de achira de 4,80 ± 0,16% y 8,06 ± 0,05% de cenizas, que son similares a los obtenidos en esta investigación.

3.2. Determinar la mezcla óptima entre los probióticos y la harina de achira para la elaboración de una bebida instantánea.

La fórmula de la bebida de achira enriquecida con probióticos se presenta en la Tabla 2. La cantidad de azúcar se estableció considerando las recomendaciones de la OMS de reducir la cantidad de ingesta diaria, que recomienda un valor de consumo diario no mayor al 5% que equivale a 25 gramos de azúcar (Pérez, 2022). En cambio, para la goma xantana la ficha técnica recomienda utilizar en un rango del 0,20% al 0,50% de una mezcla para que formar la emulsión y brindar estabilidad (CODEX STAN 192, 1995). Igualmente, para el porcentaje de probióticos se consideró la ficha técnica en la cual menciona que por cada gramo contiene $1 \cdot 10^9$ UFC.

Tabla 2: Formulaciones para preparar bebidas instantáneas

Ingredientes	Preparación (%)			
	F1	F2	F3	F4
Harían de achira	90,49	88,49	86,49	83,49
Probióticos	8	10	12	15
Gomas xantana	0,01	0,01	0,01	0,01
Azúcar	1,5	1,5	1,5	1,5

3.2.1. Determinación de la carga de microorganismos viables de la mezcla harina con probióticos.

El interés de promover la salud de forma natural ha intensificado la investigación en la creación de alimentos funcionales, que deben estar relacionados con el mantenimiento del funcionamiento normal del organismo o con la reducción de los riesgos de enfermedad (Ordóñez, 2018). Un alimento puede ser considerado como probiótico cuando el valor es $>10^6$ UFC/ml Unidades Formadoras de Colonias, en la formulación 1, con 8% de microorganismos no cumple con esta condición por lo que se la descarto (Anexo 1.). Además, mediante al análisis de varianza (Tabla 3) se determinó que existe diferencia significativa entre los porcentajes de probióticos

utilizados, considerando que el crecimiento de los microorganismos es directamente proporcional a la cantidad de cultivo iniciador. Los valores de UFC del resto de formulaciones fueron superiores a las establecidas para alimentos probióticos, según Sánchez (2013) reportó valores de $1 \cdot 10^9$ UFC/ml para una mezcla de *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus casei*, también, para una mezcla de *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus paracasei* reportó un valor de $5 \cdot 10^{10}$ UFC/ml, estas dos mezclas contienen dos de los tres microorganismos empleados por lo que son valores similares a los obtenidos que se encuentran en un rango de $1 \cdot 10^9$ a $2 \cdot 10^9$ UFC/ml.

3.3. Análisis sensorial de la bebida de achira con probióticos

Se evaluó por medio de una escala hedónica con 20 catadores no entrenados, los resultados se muestran en el Anexo 6. Se realizó un análisis de varianza para las tres fórmulas, ya que se descartó las fórmulas 1 por no poseer la cantidad mínima de microorganismo.

Se observó que no existe una diferencia significativa entre los tres tratamientos, ya que los tres se encuentran en un promedio similar de calificación para la mayoría de los atributos evaluados. Esto significa que el porcentaje de microorganismos utilizados en las formulaciones no afectan la aceptabilidad general de la bebida de achira con probióticos.

Para seleccionar la mejor formulación, se analizó los atributos sensoriales individualmente. Obteniendo similares promedios de aceptación para las características de color, olor y viscosidad. En cambio, para los atributos restantes de sabor y aceptabilidad (Tabla 5 - 6) la puntuación más alta corresponde a la formulación 3, que contiene harina de achira de 86,49%, de probióticos 12%, de gomas xantana 0,01% y 1,5% de azúcar.

Tabla 5. Análisis sensorial del parámetro de sabor de las tres formulaciones.

ESCALA	F 2	F 3	F 4
1	4	1	3
2	12	6	8
3	15	18	12
4	16	32	24

5	5	10	15
PROMEDIO	10,4	13,4	12,4

Los valores de cada fórmula son la suma de los 20 catadores.

Tabla 6. Análisis sensorial del parámetro de aceptabilidad de las tres formulaciones

ESCALA	F 2	F 3	F 4
1	2	0	1
2	10	2	6
3	18	27	21
4	24	28	28
5	0	15	10
PROMEDIO	10,8	14,4	13,2

Los valores de cada fórmula son la suma de los 20 catadores.

En la formulación seleccionada se realizaron las siguientes determinaciones:

3.4. Análisis proximal de la bebida de achira con probióticos

3.4.1. Humedad

Generalmente una bebida contiene un alto grado de humedad lo que se evidencia en varios estudios. El valor de humedad de la bebida de achira con probióticos fue de 88,17% cuyo valor es cercano al realizado en el Laboratorio de Control y Análisis de Alimentos (LACONAL) con un valor de 90,8% (Anexo 4) en condiciones ambientales de 20,3 °C y 56% de humedad relativa. Según, Vega (2012) quien realizó una bebida de suero de leche y avena reportó un valor de 84,33% de humedad, igualmente, Ortiz, (2019) reporta un rango de humedad del 93,73 a 96,78% en una bebida funcional de garbanzo y muña.

En cambio, para una bebida láctea con almidón de achira y adición de pulpa de guayaba reportaron una humedad de 77, 47% (Rey & Vanegas, 2000). La variación de humedad reportadas por los diferentes autores varía a pesar de ser bebidas, esto puede deberse a que cada uno contiene diferentes porcentajes de sólidos solubles y

contienen diferentes componentes para la elaboración de la bebida (Guambuguete, 2023)

3.4.2. Cenizas

Se considera a las cenizas como la suma de las sustancias inorgánicas (minerales y sólidos totales) presentes en la muestra, en las harinas nos ayudan a determinar la calidad ya que permite conocer adulteraciones producidas al incorporar sal, cal, yeso y talco, así mismo establece el grado de limpieza de la materia prima vegetal (Tiuquinga, 2017). La bebida de achira con probióticos presento un valor de cenizas de 0,205%, que es similar al realizado en el Laboratorio de Control y Análisis de Alimentos (LACONAL) con un valor de 0,218% (Anexo 4) en condiciones ambientales de 20,3 °C y 56% de humedad relativa. Según Vega, (2012) reporta para una bebida a base de suero de leche y avena un valor de ceniza de $0,43 \pm 0,006\%$ que es bajo al igual que está bebida.

Por otra parte, el valor reportado por Rey & Vanegas, (2000) para una bebida láctea con almidón de achira y pulpa de guayaba que fue de 4,85%, por otra parte, Ortiz, (2019) en su investigación de una bebida funcional de garbanzo y muña reporta un valor de 2,62% de cenizas. La diferencia del contenido de cenizas puede explicarse por las variedades cantidades del contenido de minerales y sales inorgánicas propias de cada materia prima (Guambuguete, 2023).

3.4.3. Proteína

Los estudios realizados por el Laboratorio de Control y Análisis de Alimentos (LACONAL) para proteína que contiene la bebida de achira con probióticos reportó un valor de 0,267% (Anexo 4) en condiciones ambientales de 20,3 °C y 56% de humedad relativa. Según Ortiz, (2019) en su investigación en la elaboración de una bebida funcional de garbanzo y muña reporto un valor de 0,62% de proteína, los dos valores son similares ya que las dos bebidas no contienen más del 1%.

En cambio, el valor de proteína de una bebida con base en suero de leche contiene valores mayores al 1,6% ya que la norma NTE INEN 2564, (2011) establece este valor mínimo en la composición de una bebida láctea, en efecto, Vega, (2012) en su investigación reporta un valor de proteína de 3,47% en la elaboración y control de calidad de una bebida a base de suero de leche y avena. Algo semejante ocurre con el

valor de proteína de la bebida láctea con almidón de achira y pulpa de guayaba cuyos investigadores reportaron un valor de 4,15% (Andrade et al., 2012).

Las proteínas son de vital importancia en la dieta del ser humano para el crecimiento y el mantenimiento de este, aunque el valor de proteína es bajo la bebida de achira tiene como propiedad funcional los microorganismos probióticos.

3.4.4. Densidad

La densidad depende de la cantidad de la mezcla que se utiliza para preparar 28 ml de la bebida de achira con probióticos, por lo que se utilizó 30 g de la mezcla en polvo. Luego de haber realizado el procedimiento para la determinación de la densidad con el empleo de la Ecuación 5 se obtuvo un valor de 1,07 g/ml este valor es similar al determinado por Rey & Vanegas, (2000) con un valor de 1,04 g/ml empleando en su bebida láctea almidón de achira y pulpa de mora y guayaba.

De igual forma, según Vega, (2012), reporta que obtuvo 1,057 g/ml de densidad en la investigación sobre la elaboración de una bebida a base de lactosuero con adición de fruta, lo que concuerda con la densidad determinada por Tonconi, (2020) en la determinación de las características nutricionales de una bebida láctea formulada con tres porcentajes de suero de leche reportó un rango de 1,029 a 1,054 g/ml. Las bebidas pueden ser catalogadas como bebidas fluidas para las cuales la FDA establece una densidad de 1,038 g/ml, por lo tanto, nuestra bebida está dentro de esta denominación (Ramírez, 2021)

3.4.5. Acidez y pH

La escala del pH de los alimentos generalmente va de 0 a 14, pero después de numerosos estudios se ha determinado que la gran mayoría, está dentro del rango de 1,5 y 10. Con la ayuda del pH se puede clasificar a los alimentos de acuerdo con el grado de acidez, cuando el pH de un alimento es mayor a 4,5 se denomina alimento bajo en ácido o de baja acidez (Ramírez, 2021). Sin embargo, la acidez de una bebida disminuye al paladar debido a la incorporación de azúcar que enmascaran dicho sabor (Pacheco et al., 2008).

El pH para la bebida de harina de achira con probióticos fue de 5,61 unidades de pH, es importante considerar que el valor de pH de la misma bebida realizada en el Laboratorio de Control y Análisis de Alimentos (LACONAL) reportó un valor de

5,47 (Anexo 4) en condiciones ambientales de 20,3 °C y 56% de humedad relativa por lo que se podría decir que son iguales. Por lo tanto, es considerada una bebida de baja acidez con un valor de 0,066% de ácido cítrico. Algo similar sucede con los valores reportados por Ortiz, (2019) en la elaboración de una bebida funcional de garbanzo y muña con un valor de acidez de 0,169% de ácido cítrico y un pH de 6,18 lo que indica que es una bebida de baja acidez.

Cabe destacar, que con las bebidas que se ha estado comparando las demás propiedades difieren mucho con el valor de pH y acidez, ya que éstas son a base de suero de leche y avena como es el caso de Vega, (2012) con un valor de acidez de 0,47% de ácido cítrico con un pH de 4,26 unidades, al igual que, los valores de 0,2% de ácido láctico y pH de 4,51 para una bebida láctea con almidón de achira y pulpa mora o guayaba reportadas por Rey & Vanegas, (2000). Estas bebidas son catalogadas como alimentos ácidos debido a que están dentro del rango de pH de 4 a 4,5, propio de los derivados lácteos.

3.4.6. Viscosidad

La viscosidad se mide generalmente a los líquidos para identificar la fuerza que necesita la sustancia para superar su fricción molecular para que fluya. La viscosidad de la bebida de harina de achira con probióticos fue realizada por el Laboratorio de Control y Análisis de Alimentos (LACONAL) dando un valor de 1419 mPa*s (Anexo 1) en condiciones de 20% y con una velocidad de 30 rpm. De modo idéntico, los resultados obtenidos fueron similares a los reportados por Arcila & Mendoza, (2006), en bebidas a base de amaranto, maíz y arroz con valores de viscosidad entre 1500 y 1650 mPa*s.

Algo semejante ocurre en el estudio realizado por Pacheco et al., (2008) en la elaboración de polvos para bebidas instantáneas a base de harina extrudida de ñame, reporto valores altos de 1990 mPa*s, también, en el mismo estudio para las otras muestras se presentan en un rango de viscosidad de 1802 a 1843 mPa*s. Por lo contrario, los datos reportados por (Rey & Vanegas, (2000) en la obtención de una bebida láctea con almidón de achira y pulpa guayaba obtuvo un valor de 150 mPa*s que es un valor bajo en relación en comparación que el valor obtenido y reportado por otros autores.

Las diferencias existentes se pueden atribuir al porcentaje de la mezcla de la bebida y a las propiedades de los almidones presentes en la harina, considerando que, la viscosidad se ve afectado por la capacidad de absorción de agua y de formar pastas viscosas y espesas, así pues, mientras mayor almidón presente una harina mayor viscosidad presentara la bebida (Arcila & Mendoza, 2006).

3.4.7. °Brix

El contenido de °Brix que puede presentar en algunos productos alimentarios, para indicar la cantidad de azúcar o sacarosa presente, es importante acotar que el valor se puede regular agregando o disminuyendo el porcentaje del azúcar (Ponte & Urbina, 2010). Los °Brix para la bebida de harina de achira con probióticos fue de 5,8 en comparación con el valor de 5,9 °Brix de la bebida realizada en el Laboratorio de Control y Análisis de Alimentos (LACONAL) (Anexo 4) en condiciones ambientales de 20,3 °C y 56% de humedad relativa, se podría decir que son iguales.

Según la norma NTE INEN 2304 (2017) para bebidas no carbonatadas establece como máximo un valor de 15 °Brix, por lo que se considera que la bebida de harina de achira con probióticos cumple con esta normativa ya que es una bebida no carbonatada y su valor de °Brix es menor. En comparación con la bebida láctea con almidón de achira y pulpa de guayaba realizada por Rey & Vanegas, (2000) que presento 20 °Brix, de igual manera la bebida a base de suero de leche y avena presenta 18 °Brix (Vega, 2012). El valor de °Brix es importante debido a que las normativas de determinados productos establecen límites máximos y mínimos del contenido de sólidos solubles o azúcar, por ello se ha considerado que se debe utilizar la cantidad mínima para convertirlo en un producto saludable (Ramírez, 2021).

3.4.8. Carga de microorganismos viables de la bebida de achira con probióticos

Luego de evaluar a las características fisicoquímicas de la mejor formulación, se procedió a la siembra por triplicado de la bebida de harina de achira con probióticos, para verificar que la muestra siga teniendo el mismo número de microorganismos viables. El valor obtenido fue de $2 \cdot 10^9$ UFC/ml que es igual al valor reportado en la primera siembra.

3.5. Verificación de hipótesis nula

En base a los resultados obtenidos se acepta la hipótesis alternativa en la cual se afirma que la harina instantánea de achira con probióticos presenta la cantidad adecuada de microorganismos.

CAPITULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones

La mezcla para bebida instantánea en base a harina de achira (*Canna indica*) enriquecida con probióticos (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus* y *Lactobacillus casei*), resultó en una bebida con bajo contenido de azúcares, con características sensoriales aceptables al consumidor, caracterizada por los beneficios probióticos de la utilización de este tipo de microorganismos y cumple con las normas relacionadas a bebidas no carbonatadas.

Para la determinación de la mezcla óptima entre los probióticos y harina, se empleó dos criterios de evaluación como es la aceptabilidad del producto y la carga microbiana viable del mismo. Se descartó la formulación 1 por no presentar la cantidad mínima de microorganismos para ser considerada como probiótico (10^6 UFC/g). Se determinó que la formulación 3 es aceptada por los catadores y presenta un número de microorganismos viables adecuados.

En la evaluación del análisis sensorial de la bebida de achira con probióticos, realizada con catadores no entrenados, se obtuvo que el porcentaje de probióticos utilizados no es percibida por los catadores especialmente en las características organolépticas de color, olor y viscosidad, por lo que no se encontraron diferencias significativas entre los tres tratamientos evaluados. Por esta razón los criterios de sabor y aceptabilidad del producto arrojaron que la formulación 3 tiene un mayor promedio de aceptabilidad, además, considerando que contiene un porcentaje de 12% de probióticos para no elevar el costo de nuestro producto final.

El análisis proximal de la bebida de achira con probióticos que contiene 86,49% de harina de achira, 12% de probióticos, 0,01% de goma xantana y 1,5% de azúcar, presentó un valor de cenizas de 0,218%, de proteína 0,267%, de humedad 90,8%, de pH 5,47, de acidez 0,066% de ácido cítrico, de viscosidad de 1419 mPa*s y de 5,9 °Brix. El contenido de microorganismos viables en el producto final obtuvo un valor de $2 \cdot 10^9$ UFC/ml, por lo que se le considera como un alimento probiótico.

4.2. Recomendaciones

Se recomienda el estudio del efecto de la variación del porcentaje de azúcar en la mejor formulación, considerado que la sacarosa es el alimento de estos microorganismos. Verificar también, si afecta a las características organolépticas y la aceptabilidad del producto.

Se recomienda la utilización de otro método de elaboración de la harina para aumentar el rendimiento, ya que se pierde una cantidad considerable en el proceso de molienda.

MATERIALES DE REFERENCIA

Bibliografía

- Alok, P., Paul, A., Rownak, J., Khoshnur, J., Tohmina, B., Anamul, H., Veeranoot, N., Pereira, M. L., Wilairatana, P., & Rahmatullah, M. (2021). Probiotics and amelioration of rheumatoid arthritis: Significant roles of lactobacillus casei and lactobacillus acidophilus. In *Microorganisms* (Vol. 9, Issue 5). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9051070>
- Andrade, M., Tapia, D., & Menegalli, F. (2012). Development and optimization of biodegradable films based on achira flour. *Carbohydrate Polymers*, 88(2), 449–458. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.12.024>
- Arcila, N., & Mendoza, Y. (2006). Elaboración de una bebida instantánea a base de semillas de amaranto (*Amaranthus cruentus*) y su uso potencial en la alimentación humana. *Revista de La Facultad de Agronomía*, 23(1), 114–124. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-78182006000100010&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Arcos, R. X. (2015). *Investigación del almidón de achira y propuesta gastronómica para el Cantón Pillaro*.
- Arévalo, K. (2009). *Eficacia de los probióticos en el tratamiento de la diarrea aguda infecciosa en pacientes pediátricos Hospital Nacional de Especialidades Guayaquil Dr. Abel Gilbert Pontón 2009*.
- Banna, G. L., Torino, F., Marletta, F., Santagati, M., Salemi, R., Cannarozzo, E., Falzone, L., Ferraù, F., & Libra, M. (2017). Lactobacillus rhamnosus GG: An overview to explore the rationale of its use in cancer. In *Frontiers in Pharmacology* (Vol. 8, Issue SEP). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00603>
- Cabrera, Z., Velazquez, G., Rodríguez, M., Méndez, G., Hernández, J., Morales, E., & Gómez, C. (2021). Dual modification of achira (*Canna indica* L) starch and the effect on its physicochemical properties for possible food applications. *Journal of Food Science and Technology*, 58(3), 952–961. <https://doi.org/10.1007/S13197-020-04609-W/TABLES/2>
- Caicedo Díaz, G. E., Wilches Rozo, S. L., & Guillermo, R. (2003). *Técnicas de cultivo, beneficio o proceso poscosecha y uso agroindustrial*.

- Castañeda, C. (2021). Nueva bioterapéutica: probióticos de próxima generación. *Revista Cubana de Pediatría*, 1(e1384), 93–1. <https://orcid.org/0000-0001-9925-5211>
- CODEX STAN 192. (1995). *NORMA GENERAL PARA LOS ADITIVOS ALIMENTARIOS*. <http://www.who.int/ipcs/food/jecfa/en/>
- Corrales, D., & Palacios, J. A. (2020). Los probióticos y su uso en el tratamiento de enfermedades Probiotics and their use in the treatment of diseases. *Revista Ciencias Biomédicas*, 9(1), 54–66.
- Georgieva, R., Iliev, I., Haertlé, T., Chobert, J. M., Ivanova, I., & Danova, S. (2009). Technological properties of candidate probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. *International Dairy Journal*, 19(11), 696–702. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.06.006>
- Guambuguete, M. (2023). Obtención de harina a partir de rizomas de achira (*Canna Edulis*) y diseño de isotermas de sorción mediante los modelos GAB, Oswin y Henderson para la determinación de propiedades termodinámicas de interés en la industria alimenticia. In *Universidad Central del Ecuador Facultad de Ingeniería Química Carrera de Ingeniería Química*. Universidad Central del Ecuador Facultad de Ingeniería Química Carrera de Ingeniería Química.
- Guarner, F. (2020). *Microbiota Probióticos Prebióticos*. www.ergon.es
- Hill, D., Sugrue, I., Tobin, C., Hill, C., Stanton, C., & Ross, R. P. (2018). The *Lactobacillus casei* group: History and health related applications. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 9, Issue SEP). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02107>
- Huang, C. H., Li, S. W., Huang, L., & Watanabe, K. (2018). Identification and classification for the *Lactobacillus casei* group. *Frontiers in Microbiology*, 9(AUG). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01974>
- Janković, T., Frece, J., Abram, M., & Gobin, I. (2012). Aggregation ability of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. In *International Journal of sanitary engineering research* (Vol. 6, Issue 1).
- Le, B., & Yang, S. H. (2018). Efficacy of *Lactobacillus plantarum* in prevention of inflammatory bowel disease. In *Toxicology Reports* (Vol. 5, pp. 314–317). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2018.02.007>

- Marquez Urrizola, F. (2011). *Caracterización de la tolerancia a pH ácido, tolerancia a la bilis, susceptibilidad a antibióticos y de la colonización en gerbos de Mongolia de las cepas de Lactobacillus gástricas 25A y 979C*. Universidad de Concepción.
- Morales, D. A. (2019). *Proyecto para la elaboración y comercialización de té de achira en la ciudad de Quito-Ecuador*.
- NTE INEN 0616. (2006). *Harina de trigo*.
- NTE INEN 2564. (2011). *Bebidas Lácteas*.
- NTE INEN 2304 (2017). *REFRESCOS O BEBIDAS NO CARBONATADAS*.
- Ocaña, I. A. (2019). *Caracterización Físicoquímica, Nutricional y Reológica De Cultivos Andinos Infrautilizado*.
- Ortiz, J. (2019). *UTILIZACIÓN DE GARBANZO (Cicer arietinum L.) Y MUÑA (Minthostachys mollis) PARA LA ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA FUNCIONAL*".
- Ordóñez, J. (2018) elaboración de microencapsulados de Bacterias probióticas para mejorar las enfermedades de los Alimentos
- Pacheco, E., Techeira, N., & García, A. D. (2008). ELABORACIÓN Y EVALUACIÓN DE POLVOS PARA BEBIDAS INSTÁNTANEAS A BASE DE HARINA EXTRUDIDA DE ÑAME (Dioscorea alata). In *Rev Chil Nutr* (Vol. 35).
- Parra, R. (2010). *REVISIÓN DE LAS BACTERIAS DEL ÁCIDO LÁCTICO: PAPEL FUNCIONAL EN LOS ALIMENTOS*.
- Pérez, E. (2022). Diagnóstico del consumo de azúcar proveniente de bebidas comerciales con contenido de azúcar añadido. *InterSedes*, XXIII, 1.
- Ponte, E. A., & Urbina, S. (2010). *ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UNA BEBIDA FERMENTADA A BASE DE UNA MEZCLA DE MAIZ DE JORA (Zea mays L.), GARBANZO (Cicer arietinum L.) Y HARINA DE TRIGO*.
- Ramírez, Y. (2021). *IMPREGNACIÓN DE SACARINA EN RODAJAS DE YACÓN (Smallanthus sonchifolius) Y ANÁLISIS SENSORIAL DE LA BEBIDA RESULTANTE*.
- Rey, H., & Vanegas, E. (2000). *Obtención de una bebida láctea con almidón de achira y pulpa de fruta (mora, guayaba) fruta (mora, guayaba)*. https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_alimentos
- Rodríguez, G., García, H., Camacho, J., & Arias, F. (2003). *El Almidón de Achira o Sagú (Canna edulis, Ker)*.

- Serrano, S., Burillo, T., Fernández, C., López, J., Serrano, P., & Hernández, C. (2015). Microorganismos probióticos y salud. In *Ars Pharm* (Vol. 56, Issue 1). <http://farmacia.ugr.es/ars>
- Tiuquinga, J. (2017). *UTILIZACIÓN DE DIFERENTES NIVELES DE HARINA DE Canna edulis (ACHIRA) EN LA ALIMENTACIÓN DE CUYES EN LA ETAPA DE GESTACIÓN–LACTANCIA.*
- Tonconi, R. (2020). *CARACTERÍSTICAS NUTRICIONALES DE UNA BEBIDA LÁCTEA FORMULADA CON TRES PORCENTAJES DE SUERO DE LECHE EN VIACHA.*
- Vega, G. (2012). *ELABORACIÓN Y CONTROL DE CALIDAD DE UNA BEBIDA A BASE DE SUERO DE LECHE Y AVENA (Avena sativa), PARA PRODUCCOOP “EL SALINERITO.*
- Verdenelli, M. C., Ghelfi, F., Silvi, S., Orpianesi, C., Cecchini, C., & Cresci, A. (2009). Probiotic properties of *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus paracasei* isolated from human faeces. *European Journal of Nutrition*, 48(6), 355–363. <https://doi.org/10.1007/s00394-009-0021-2>
- Yli-Knuuttila, H., Snäll, J., Kari, K., & Meurman, J. (2006). *Colonization of Lactobacillus rhamnosus GG in the oral cavity.* 1–131.

Anexos

Anexo 1

Tabla 3. Análisis de varianza del número de microorganismo presentes en las formulaciones.

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>							
UFC	4	10	2,5	1,66666667							
8	4	2301,38657	575,346642	96263,3235							
10	4	7553400000	1888350000	4,0611E+15							
12	4	8003456667	2000864167	1,742E+16							
15	4	9373438667	2343359667	2,9855E+16							
					<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos						2,117E+19	4	5,2917E+18	515,39471	7,365E-16	3,055568
Dentro de los grupos						1,540E+17	15	1,0267E+16			
Total						2,132E+19	19				

Anexo 2

Tabla 4. Análisis de varianza para las tres fórmulas.

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>			
Formulación 2	25	285	11,4	135,83			
Formulación 3	25	323	12,92	120,91			
Formulación 4	25	322	12,88	120,61			

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Proba bilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	37,52	2	18,76	0,149	0,861	3,123
Dentro de los grupos	9056,48	72	125,78			
Total	9094	74				

Anexo 3

Tabla 4 recuento microbiano

	UFC/gr			
Porcentaje (%)	8	10	12	15
Resultado	<1*10 ⁹	1,9x10 ¹¹	MNPC	MNPC

Anexo 4. Resultados de la bebida de achiras extendido por Laboratorio de Control y



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA
LABORATORIO DE CONTROL Y ANÁLISIS DE ALIMENTOS

01085

CERTIFICADO DE ANALISIS DE LABORATORIO

Certificado No: 23-156		R01-7.8 03							
Solicitud N°: 23-156		Pág.: 1 de 1							
Fecha recepción: 18 de julio de 2023		Fecha de ejecución de ensayos: 19 al 21 de julio de 2023							
Información del cliente:									
Empresa:	C.I./RUC: 1804714374								
Representante: Juan Gabriel Albán Rodríguez	Tlf: 0995599548								
Dirección: Pillaro	Email: juan.alban4374@uta.edu.ec								
Ciudad: Pillaro									
Descripción de las muestras:									
Producto: Bebida a base de Harina de Achira	Peso: 200g								
Marca comercial: n/a	Tipo de envase: botella plástica								
Lote: n/a	No de muestras: una								
F. Elb.: n/a	F. Exp.: n/a								
Conservación: Ambiente: Refrigeración: X Congelación:	Almac. en Lab: 30 días								
Cierres seguridad: Ninguno: Intactos: X Rotos:	Muestreo por el cliente: 18 de julio de 2023								
RESULTADOS OBTENIDOS									
Muestras	Código del laboratorio	Código cliente	Ensayos solicitados/Técnica	Métodos utilizados	Unidades	Resultados			
Bebida a base de Harina de Achira	15623314	Ninguno	Cenizas, Gravimetría	AOAC Ed. 22, 2023 925.03	%	0,218			
			Proteína, Kjeldhal	AOAC Ed. 22, 2023 2001.11	%(Nx6,25)	0,267			
			Humedad, Gravimetría	AOAC Ed. 22, 2023 925.10	%	90,8			
			pH, Potenciometría	AOAC 981.12. Ed. 22, 2023	Unidades de pH	5,47			
			Acidez, Potenciometría	AOAC 942.15. Ed. 22, 2023	% ácido cítrico	0,066			
			Viscosidad, Reología	USP 35	mPa·s	1419			
			Sólidos solubles, Refractometría	AOAC 932.12. Ed. 22, 2023	°Bx	5,9			
			Conds. Ambientales: 20,3°C; 56%HR						
			Nota: Condiciones del ensayo de viscosidad: Porcentaje: 20,0%; Velocidad: 30rpm.						

Anexo 5. Hoja de cata

**UNIVERSIDAD TECNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERIA EN ALIMENTOS
PROYECTO**

“Desarrollo de una mezcla para bebida instantánea en base a harina pre-cocida de achira (*Canna indica*) enriquecida con probióticos (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus* y *Lactobacillus casei*).”

Nombre: _____

Fecha: _____

Instrucciones:

- Se le entregara 3 muestras, cada identificada como muestra 1-2-3
- Pruebe la muestra e identifique su nivel de agrado y marque con una X la opción que usted considera. Considerando que 5 es el mayor puntaje y 1 el menor puntaje.
- Luego de consumir cada muestra, por favor mastique un trazo de galleta y tome un sorbo de agua para poder limpiar su paladar, y continúe con la siguiente muestra.

Característica	Alternativa	Muestras		
		Muestra 1 (1JA2M)	Muestra 2 (2MG3J)	Muestra 3 (3AM4E)
COLOR	1. Me disgusta mucho			
	2. Me disgusta			
	3. Ni me gusta ni me disgusta			
	4. Me gusta			
	5. Me gusta mucho			
OLOR	1. Me disgusta mucho			
	2. Me disgusta			
	3. Ni me gusta ni me disgusta			
	4. Me gusta			
	5. Me gusta mucho			
SABOR	1. Me disgusta mucho			
	2. Me disgusta			
	3. Ni me gusta ni me			

	disgusta			
	4. Me gusta			
	5. Me gusta mucho			
VISCOCIDAD	1. Me disgusta mucho			
	2. Me disgusta			
	3. Ni me gusta ni me disgusta			
	4. Me gusta			
	5. Me gusta mucho			
ACEPTABILIDAD	1. Me disgusta mucho			
	2. Me disgusta			
	3. Ni me gusta ni me disgusta			
	4. Me gusta			
	5. Me gusta mucho			

OBSERVACIONES:

¡GRACIAS POR SU COLABORACIÓN!

Anexo. 6 Resultados del análisis sensorial

CARACTERÍSTICAS	Alternativa	Muestras1 (1JA2M)	Muestra2 (2MG3J)	Muestra3 (3AM4E)
COLOR	Me disgusta mucho	0	1	0
	Me disgusta	6	2	2
	Ni me gusta, ni me disgusta	10	11	12
	Me gusta	3	6	6
	Me gusta mucho	1	0	0
OLOR	Me disgusta mucho	1	1	0
	Me disgusta	4	1	1
	Ni me gusta, ni me disgusta	8	15	10
	Me gusta	7	2	7
	Me gusta mucho	0	1	2
SABOR	Me disgusta mucho	1	4	3
	Me disgusta	3	6	4
	Ni me gusta, ni me disgusta	6	5	4
	Me gusta	8	4	6
	Me gusta mucho	2	1	3
VISCOSIDAD	Me disgusta mucho	1	1	3
	Me disgusta	5	7	3
	Ni me gusta, ni me disgusta	5	7	7
	Me gusta	7	5	5
	Me gusta mucho	2	0	2
ACEPTABILIDAD	Me disgusta mucho	0	2	1
	Me disgusta	1	5	3
	Ni me gusta, ni me disgusta	9	6	7
	Me gusta	7	6	7
	Me gusta mucho	3	0	2