



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE INGENIERÍA
CARRERA AGROINDUSTRIA

Efecto de la adición de suero de quesería fermentado con *Lactobacillus plantarum* en la elaboración de pan

Trabajo de Titulación para optar al título de Ingeniero en Agroindustria

Autor:

Salazar Robalino Jhostyn Hernán

Tutor:

PhD. Sonia Lourdes Rodas Espinoza

Riobamba, Ecuador. 2024

DECLARATORIA DE AUTORÍA

Yo, Jhostyn Hernán Salazar Robalino, con cédula de ciudadanía 0604929034, autor (a) (s) del trabajo de investigación titulado: Efecto del suero de quesería fermentado con *Lactobacillus plantarum*, certifico que la producción, ideas, opiniones, criterios, contenidos y conclusiones expuestas son de mí exclusiva responsabilidad.

Asimismo, cedo a la Universidad Nacional de Chimborazo, en forma no exclusiva, los derechos para su uso, comunicación pública, distribución, divulgación y/o reproducción total o parcial, por medio físico o digital; en esta cesión se entiende que el cesionario no podrá obtener beneficios económicos. La posible reclamación de terceros respecto de los derechos de autor (a) de la obra referida, será de mi entera responsabilidad; librando a la Universidad Nacional de Chimborazo de posibles obligaciones.

En Riobamba, a la fecha de su presentación.



Jhostyn Hernán Salazar Robalino
C.I:0604929034

DICTAMEN FAVORABLE DEL PROFESOR TUTOR

Quien suscribe, Sonia Lourdes Rodas Espinoza catedrático adscrito a la Facultad de Ingeniería, por medio del presente documento certifico haber asesorado y revisado el desarrollo del trabajo de investigación “Efecto de la adición del suero de mantequilla con *Lactobacillus Platarum* en la elaboración de pan”, bajo la autoría de Jhostyn Hernán Salazar Robalino; por lo que se autoriza ejecutar los trámites legales para su sustentación.

Es todo cuanto informar en honor a la verdad; en Riobamba, a los días del mes de nombre mes de año



Ing. Sonia Lourdes Rodas Espinoza PhD.
C.I:0601864127

CERTIFICADO DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL

Quienes suscribimos, catedráticos designados Miembros del Tribunal de Grado para la evaluación del trabajo de investigación Efecto de la adición del suero de quesería fermentado con *Lactobacillus plantarum* en la elaboración de pan, presentado por Jhostyn Hernán Salazar Robalino, con cédula de identidad número 0604929034, bajo la tutoría de Dra. Sonia Lourdes Rodas Espinoza; certificamos que recomendamos la APROBACIÓN de este con fines de titulación. Previamente se ha evaluado el trabajo de investigación y escuchada la sustentación por parte de su autor; no teniendo más nada que observar.

De conformidad a la normativa aplicable firmamos, en Riobamba a la fecha de su presentación.

Ana Mejía, Mgs.

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE GRADO



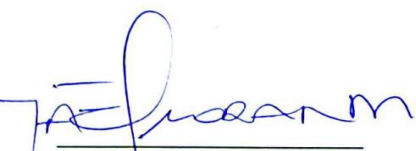
Paul Ricaurte PhD.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE GRADO



José Antonio Escobar, Mgs.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE GRADO





Dirección
Académica
VICERRECTORADO ACADÉMICO

en movimiento



UNACH-RGF-01-04-08.17
VERSIÓN 01: 06-09-2021

CERTIFICACIÓN

Que, Salazar Robalino Jhostyn Hernán con CC: 0604929034, estudiante de la Carrera de Agroindustria, Facultad de Ingeniería; ha trabajado bajo mi tutoría el trabajo de investigación titulado " **EFFECTO DE LA ADICIÓN DE SUERO DE QUESERÍA FERMENTADO CON *Lactobacillus plantarum* EN LA ELABORACIÓN DE PAN**", cumple con el 9 %, de acuerdo al reporte del sistema Anti plagio **Turnitin**, porcentaje aceptado de acuerdo a la reglamentación institucional, por consiguiente autorizo continuar con el proceso.

Riobamba, 16 de septiembre de 2024



INGENIERA SONIA RODAS ESPINOZA
FACULTAD DE INGENIERÍA

Ing. Sonia Rodas Espinoza Ph.D
TUTOR(A)

DEDICATORIA

Querido Dios y queridos padres,

En el transcurso de esta investigación, he aprendido varias cosas nuevas para mi vida. En cada paso de este camino, quiero reconocer y agradecer a cada uno de ustedes por su influencia y apoyo constante.

Dios, Tú eres la fuente de toda sabiduría y he creído en ti siempre. Con humildad, reconozco tu guía en este proceso y agradezco por la capacidad de explorar el mundo que has creado, buscando comprender mejor tus maravillas y misterios.

Mis queridos padres Hernán y Mercedes, su amor, apoyo y sacrificio son la base de mi vida. Cada esfuerzo que hago en este trabajo es un tributo a la dedicación que han demostrado a lo largo de los años. Sus valores y enseñanzas han sido mi brújula moral y me han impulsado a esforzarme al máximo.

En este trabajo de investigación, comprometo mi tiempo, energía y esfuerzo para honrar a Dios y a ustedes, mis padres. Que este trabajo sea un reflejo de mi gratitud y dedicación a cada uno.

Con amor y gratitud

AGRADECIMIENTO

Queridos padres, hermanos y queridos colaboradores,

Primero que todo quiero darte las gracias, querido padre por nunca decirme un no en el transcurso de mi carrera, he sentido tu apoyo y sé el trabajo que has tenido que realizar para darme una buena educación, te quiero y te admiro mucho.

Quiero expresar mi profundo agradecimiento a cada uno por haber sido fundamental en la realización de este trabajo de investigación. Su influencia, apoyo y aliento han sido pilares en este camino, y sin su contribución, este logro no habría sido posible.

Su contribución ha sido invaluable a quienes influyeron en este trabajo de investigación, ya sea dando consejos, compartiendo conocimientos, o simplemente escuchando mis ideas. Su experiencia y perspectivas enriquecieron mi trabajo y me motivaron a esforzarme aún más.

ÍNDICE GENERAL

DECLARATORIA DE AUTORÍA	
DICTAMEN FAVORABLE DEL PROFESOR TUTOR	
CERTIFICADO DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL	
CERTIFICADO ANTIPLAGIO	
DEDICATORIA	
AGRADECIMIENTO	
RESUMEN	
ABSTRACT	
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.....	14
1.1 Antecedentes	14
1.2 Problema	15
1.2.1 Planteamiento del problema	15
1.3 Justificación	16
1.4 Objetivos	17
1.4.1 General	17
1.4.2 Específicos	17
CAPÍTULO II. ESTADO DEL ARTE Y MARCO TEÓRICO.....	18
2.1. Estado del arte	18
2.2. Marco teórico.....	19
2.2.1. Leche	19
2.2.2. Queso	20
2.2.3. Suero de leche.....	20
2.2.4. Fermentación de alimentos por bacterias ácido lácticas.....	20
2.2.5. Suero de leche fermentado con bacterias ácido lácticas.....	21
2.2.6. Actividad Antimicrobiana	21
2.2.7. <i>Lactobacillus plantarum</i> y sus características.....	21
2.2.8. El pan	23
2.2.9. Cambios físicos y químicos durante la conservación del pan.	23
2.2.10. Métodos de conservación del pan.....	24
2.2.11. Crecimiento microbiano en el pan.....	24
2.2.12. Vida útil de un producto	25
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA.....	27
3.1. Tipo de Investigación	27

3.2. Diseño de investigación.....	27
3.2.1. Unidad Estadística	27
3.2.2. Lugar de estudio	27
Diagrama de flujo	27
Descripción del proceso.....	29
Actividad antifúngica	29
Elaboración del pan	31
3.3.1. Análisis de laboratorio.....	32
Caracterización fisicoquímica y microbiológica del suero.....	32
Caracterización del pan.	32
Métodos de análisis para la caracterización fisicoquímica y microbiológica del pan.....	32
Materiales y equipos.....	34
3.4. Población de estudio y tamaño de muestra.....	34
3.5. Métodos de análisis, y procesamiento de datos.....	34
ANOVA	35
TUKEY	35
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	36
4.1. Determinación de formulaciones.....	36
4.2. Caracterización microbiológica y fisicoquímica del suero.....	38
4.3. Caracterización fisicoquímica del mejor tratamiento.....	43
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	46
5.1. Conclusiones	46
5.2. Recomendaciones	47
BIBLIOGRAFÍA	48
ANEXOS	52

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Métodos de análisis para la caracterización fisicoquímica del pan	34
Tabla 2 Concentración de <i>L. plantarum</i> para cada tratamiento	30
Tabla 3 Materiales y equipos	33
Tabla 4 Formulaciones para cada tratamiento	37
Tabla 5 Revisiones bibliográficas	36
Tabla 6 Análisis microbiológico del suero	38
Tabla 7 Análisis fisicoquímicos del suero	39
Tabla 8 Estadísticos	
Tabla 9 Estadístico microbiológico	42
Tabla 10 Estadísticos mejor tratamiento	43
Tabla 11 Estadísticos de grupo 2	44
Tabla 12 Análisis microbiológicos del pan 2	45

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 <i>Lactobacillus plantarum</i>	23
Figura 2 Diagrama de flujo del proceso	28

RESUMEN

Actualmente, existe una creciente preocupación por la vida útil de los productos alimenticios, por ende, hay que encontrar algún tipo de alternativa que permita solucionar aspectos como el deterioro microbiológico. El pan debido a su composición tiene una vida útil muy limitada, es por esta razón que el objetivo de la investigación es analizar el efecto de la incorporación del suero de quesería fermentado con *Lactobacillus plantarum* en la elaboración de pan. Con ese propósito se estableció tres tratamientos cuya variable fue las concentraciones en relación masa volumen que consistían en 0,25 % correspondiente al TS1; 0,5 % el cual pertenece al TS2; y finalmente, se empleó el 0,75% correspondiendo al TS3 donde la masa representó la cantidad de cepa probiótica en polvo de *L.plantarum* en 200 ml de suero pasteurizado y dos tratamientos control el TC y el TC2 cuya diferencia radica en que se reemplazó el suero fermentado en la elaboración del pan por 200 ml de agua en el TC mientras que en el TC2 se utilizó 200 ml de suero pasteurizado sin cepa probiótica. Para ello se planteó un diseño en bloques completo al azar y una prueba de Tukey con un nivel de significancia del 5% para la determinación de diferencias significativas entre los resultados del análisis microbiológico y los días de almacenamiento del pan (1, 8 y 15). Además, se aplicó una prueba de hipótesis unilateral de área derecha para la media con varianza desconocida. Se definió las ventajas en el aspecto microbiológico que tiene la utilización de esta cepa, principalmente la actividad antifúngica que esta cepa posee, el tratamiento TS3 dio como resultado una ausencia de mohos y levaduras en el día 15 del control donde, además los resultados sugieren que esta adición puede influir de manera positiva en aspectos como la grasa, la proteína con un aumento del 48,94 % con respecto al pan convencional potenciando así su valor nutricional y reduce mínimamente la humedad de 31,63 % del pan convencional a 29,40 % lo que beneficia su conservación. En conclusión, esta investigación ha explorado el potencial del suero de quesería fermentado con *L. plantarum* como un aditivo beneficioso en la elaboración de pan. Además, para avanzar más en este campo de estudio sería beneficioso explorar diferentes variables de fermentación y concentraciones bacterianas para optimizar aún más la calidad y seguridad del producto final.

Palabras claves: pan, suero de quesería, vida útil, *Lactobacillus plantarum*, fermentación.

ABSTRACT

There is currently a growing concern about the shelf life of food products, therefore, some kind of alternative must be found to solve issues such as microbiological deterioration. Bread, due to its composition, has a very limited shelf life, which is why the objective of the research is to analyze the effect of incorporating fermented cheese whey with *Lactobacillus plantarum* in bread making. For this purpose, three treatments were established whose variable was the concentrations in relation to mass volume, which consisted of 0.25% corresponding to TS1; 0.5% which belongs to TS2; and finally, 0.75% was used corresponding to TS3 where the mass represented the amount of probiotic strain in powder of *L. plantarum* in 200 ml of pasteurized whey and two control treatments TC and TC2 whose difference lies in that the fermented whey in the preparation of bread was replaced by 200 ml of water in TC while in TC2 200 ml of pasteurized whey without probiotic strain was used. For this purpose, a complete randomized block design and a Tukey test with a significance level of 5% were proposed to determine significant differences between the results of the microbiological analysis and the days of storage of the bread (1, 8 and 15). In addition, a right-sided area hypothesis test was applied for the mean with unknown variance. The advantages of using this strain in the microbiological aspect were defined, mainly the antifungal activity that this strain has. The TS3 treatment resulted in an absence of molds and yeasts on day 15 of the control. In addition, the results suggest that this addition can positively influence aspects such as fat and protein with an increase of 48.94% compared to conventional bread, thus enhancing its nutritional value and minimally reducing humidity from 31.63% of conventional bread to 29.40%, which benefits its conservation. In conclusion, this research has explored the potential of cheese whey fermented with *L. plantarum* as a beneficial additive in bread making. In addition, to advance further in this field of study, it would be beneficial to explore different fermentation variables and bacterial concentrations to further optimize the quality and safety of the final product.

Keywords: bread, cheese whey, shelf life, *Lactobacillus plantarum*, fermentation.



Revista de Investigación en
MARITZA DE LOURDES
CHAVEZ AGUAGALLO

Reviewed by:

Mgs. Maritza Chávez Aguagallo

ENGLISH PROFESSOR

c.c. 0602232324

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.

1.1 Antecedentes

Uno de los subproductos clave de la industria láctea es el suero de quesería, que es el líquido resultante después de separar la caseína durante la fabricación del queso. Según datos del Centro de Industrias Lácteas [CIL] (2019) se genera cerca de 900 mil litros de suero al día, pero solo el 10 % es utilizado en la industria ecuatoriana lo que significa que el 90 % de suero es desechado en suelos y cuerpos de agua, lo que genera un daño ambiental considerable. A pesar de estos desafíos, el suero de quesería también contiene proteínas, lípidos y minerales, que lo convierten en un valioso ingrediente en la producción de diversos alimentos (Zotta et al., 2020).

Este subproducto debido a su composición es rico en lactosa, proteínas y grasas, lo que resulta en un alto contenido de DBO (Demanda bioquímica de oxígeno) y DQO (Demanda química de oxígeno), que pueden afectar negativamente al medio ambiente si no se manejan adecuadamente. (David & Ramirez, 2022)

Por otro lado, la producción y consumo de pan son aspectos fundamentales en la cultura alimentaria ecuatoriana. Según el Instituto Nacional de Estadística y Censos [INEC] (2023), el pan es el producto más consumido por los ecuatorianos entre 20 alimentos principales. Es especialmente popular entre las clases sociales más bajas, quienes destinan una mayor proporción de sus ingresos a adquirir este producto. En términos de volumen, el pan representa el mayor porcentaje de alimentos adquiridos por un hogar. Por eso, uno de los desafíos de la industria panadera es conservar la frescura y calidad del pan durante su vida útil, factores como la contaminación física, química y microbiológica afectan a estas industrias, especialmente en un contexto donde el desperdicio de alimentos preocupa cada vez más.

Gutiérrez (2020) menciona que, la duración de la vida útil de un alimento se ve influenciada por una variedad de factores, que pueden agruparse en dos categorías principales: intrínsecos y extrínsecos. Ambos tipos de factores comparten un elemento crucial: la microbiota asociada. Los factores inherentes al producto final determinan su vulnerabilidad al deterioro microbiológico a lo largo de su tiempo de conservación. Cada tipo de microorganismo exhibe un rango específico de condiciones de crecimiento, definido por valores máximos y mínimos tales como: *E.coli*, *Staphylococcus aureus*, *mesófilos aerobios*, *mohos* y *levaduras*, otras fisicoquímicos como la temperatura, pH y actividad del agua (*aw*), dentro de los cuales pueden desarrollarse y multiplicarse estos microorganismos patógenos lo que causaría una contaminación en el producto.

La posibilidad de contaminación de los alimentos puede ocurrir en cualquier fase del proceso: producción o distribución. Los estudios de vida útil tienen un efecto significativo en la seguridad alimentaria, al proporcionar garantías de que un alimento es seguro, no supone riesgos para la salud, está libre de contaminación o que, en caso de contaminación, no representa un peligro para el consumidor y, además, cumple con las características de calidad esperadas (Hernández, 2020).

En el suero de quesería su fermentación mediante el uso de *Lactobacillus plantarum*, conocidas por su capacidad probiótica y propiedades antimicrobianas, puede generar metabolitos beneficiosos que contribuyen a la conservación del pan. Estos metabolitos incluyen ácidos orgánicos, péptidos antimicrobianos y compuestos con actividad antioxidante (Izzo et al., 2020).

La evaluación del pan añadiendo suero de quesería fermentado con el uso de *Lactobacillus* es una solución para abordar uno de los principales factores de contaminación microbiológica, los mohos y levaduras, que impactan negativamente en la vida útil y calidad del pan. Por tanto, el objetivo del trabajo de investigación es evaluar el efecto de la adición de suero de quesería fermentado con *Lactobacillus plantarum*. El estudio experimental analiza diferentes concentraciones de suero fermentado con este probiótico y evalúa diversos parámetros, como las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas.

1.2 Problema

1.2.1 Planteamiento del problema

En un estudio realizado por García et al. (2019) afirma que el pan, siendo un producto alimenticio perecedero, experimenta una disminución en su calidad y frescura a medida que transcurre el tiempo de almacenamiento. Desde una perspectiva microbiológica, la reducción en la duración de la vida de los productos de panadería se atribuye al crecimiento de hongos filamentosos o mohos.

Como expresa Dopazo et al. (2023) entre todas las variedades de mohos que pueden contaminar los alimentos, los productos de panadería destacan por su alta susceptibilidad a la contaminación por especies como *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* y *Rhizopus*. Específicamente, se ha observado que los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* son los más perjudiciales para la salud humana. El desarrollo de mohos en los alimentos es un importante problema económico y constituye una de las principales preocupaciones expresadas por los consumidores.

Por otro lado, la falta de conocimiento o conciencia dentro de la industria panificadora puede deberse a que muchos panaderos no están plenamente informados sobre las ventajas que microorganismos específicos pueden aportar, como *Lactobacillus plantarum*, que puede ofrecer en términos de mejoramiento de calidad y las características del pan una gran ventaja. Asimismo, en la actualidad, se observa una creciente preferencia entre los consumidores de alimentos por productos elaborados con ingredientes naturales (Dopazo et al., 2023).

Por la composición química del suero de leche, su eliminación inapropiada puede convertirlo en un líquido altamente contaminante para los cuerpos de agua y suelos. Cuando se vierte en corrientes de agua, la elevada concentración de materia orgánica en el suero de leche aumenta mucho la demanda de oxígeno, en cuanto a suelos, la descarga continua de suero de leche altera las propiedades fisicoquímicas del suelo, reduciendo el rendimiento de los cultivos. Además, el suero de leche contiene nitrógeno, que puede

provocar la lixiviación de nutrientes en el suelo. Como resultado, las capas superiores del suelo pierden sus compuestos nutritivos y se vuelven más ácidas, es por esta razón que encontrar una utilización del suero de leche es de vital importancia para evitar la contaminación que este producto genera (Prolactea, 2023).

1.2.2. Formulación del problema

¿Cuál es el efecto de la adición de suero dulce de quesería fermentado con *Lactobacillus plantarum* en las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas del pan en contraste con el pan convencional?

1.3 Justificación

Esta investigación busca evaluar el impacto de la incorporación de suero de quesería fermentado con *Lactobacillus plantarum* en la vida útil del pan. Estudios previos han demostrado que la inclusión de este microorganismo mejora la vida útil del pan en el aspecto microbiológico (Izzo et al., 2020).

Las cepas *Lactobacillus plantarum* son conocidas por su capacidad probiótica y propiedades antimicrobianas, además de las capacidades para producir diversas y potentes bacteriocinas, que son péptidos antimicrobianos con posibles aplicaciones como conservantes de alimentos o agentes antibióticos complementarios, lo que puede inhibir el crecimiento de mohos y bacterias patógenas en el pan, lo que ayudaría en uno de los factores más importantes para su vida útil y mejoraría su seguridad alimentaria (Izzo et al., 2020).

Según García (2022) los panes elaborados y fortificados con suero de leche son altamente valorados por su potencial para ser comercializados exitosamente entre consumidores que buscan alimentos libres de gluten y con mayor contenido proteico en su dieta. Además, se observó que la adición de este suero de leche modificó la textura del pan, otorgándole una mejor apariencia y un mayor valor nutricional.

Valerio et al. (2017) expresa que, en el presente, existe una creciente solicitud entre los panaderos de aumentar la eficiencia en la producción sin sacrificar la calidad y la aceptación por parte de los consumidores de los productos horneados. Por eso la investigación es beneficiosa y un estudio de gran relevancia en la industria alimentaria. Este estudio aspira presentar una opción natural y sostenible para preservar la frescura y calidad del pan, con el fin de prescindir de aditivos químicos o conservantes artificiales como el propionato de calcio, lo cual es esencial para abordar las demandas de los consumidores contemporáneos centrados en ingredientes saludables y prácticas sostenibles.

Por otro lado, la adición de suero de quesería fermentado en la producción de pan aprovecha un subproducto de la industria láctea, lo que significa una reducción del impacto ambiental que este desecho genera. El suero de quesería es un producto de alto valor nutricional rico en proteínas, lactosa, minerales y compuestos bioactivos, lo que lo convierte en un ingrediente potencialmente beneficioso para su aprovechamiento en el

proceso de fabricación del pan, pero sobre todo es el medio adecuado para que la cepa de *L. plantarum* pueda desarrollarse de la mejor manera posible (Dopazo et al., 2023).

1.4 Objetivos

1.4.1 General

- Evaluar el efecto de la adición de suero de quesería fermentado con *Lactobacillus plantarum* en la elaboración de pan.

1.4.2 Específicos

- Establecer formulaciones a base de diferentes concentraciones de suero fermentado con *Lactobacillus plantarum* mediante la experimentación y revisión bibliográfica en la elaboración del pan.
- Analizar las características fisicoquímicas y microbiológicas del pan añadido el suero fermentado con *Lactobacillus plantarum* en comparación a un pan convencional

CAPÍTULO II. ESTADO DEL ARTE Y MARCO TEÓRICO

2.1.Estado del arte

Según Estofanero (2016) indicó que, la degradación del pan generalmente ocurre debido a la presencia de moho, que son organismos fungales que se encuentran tanto en el medio ambiente como en áreas con alta humedad y poca luz. El moho es el factor principal que limita la vida útil de los productos con humedad altos o moderados, y es la principal causa de pérdidas económicas en la industria panificadora.

De acuerdo con Seddik et al. (2017) mencionó que los compuestos antimicrobianos generados por las bacterias ácido lácticas contribuyen a la preservación de una amplia gama de alimentos. Su aplicación como bioconservantes podría disminuir la necesidad de conservantes sintéticos y procedimientos térmicos agresivos, lo que resultaría en productos alimenticios mínimamente procesados y de origen natural.

La biopreservación que se basa en el uso de bacterias lácticas (BAL) y sus metabolitos, podría contribuir a mejorar la seguridad alimentaria y ofrecer otros beneficios para la salud humana. Esto se debe a su capacidad para aumentar el valor nutricional de los alimentos mediante la producción de vitaminas, ácidos orgánicos y otros compuestos bioactivos. Además, las bacterias lácticas muestran actividad antibacteriana y antifúngica, lo que indica aún más su potencial como método de preservación alimentaria seguro y saludable (Zapašnik et al., 2022).

Citando a Dinev et al. (2018) *L. plantarum* es una BAL con una potente actividad antimicrobiana. Esto significa que puede inhibir el crecimiento de otros microorganismos, incluidos los patógenos. Por esta razón, *Lactobacillus plantarum* se puede utilizar como bioconservante en alimentos, para prolongar su vida útil y reducir el riesgo de contaminación. También se puede utilizar como agente terapéutico para tratar infecciones causadas por microorganismos susceptibles.

Gereková et al. (2011) dice que las cepas de *Lactobacillus* se usan como cultivos iniciales en la industria panificadora. Sus funciones metabólicas no solo permiten prolongar la vida útil mediante la acidificación, sino que también contribuyen a las propiedades sensoriales y tecnológicas de los productos horneados. Actualmente, hay una creciente demanda entre los panaderos para agilizar la producción sin comprometer la calidad y aceptación de los consumidores de los productos horneados.

Desde el punto de vista de Espinoza, (2022) deduce que la incorporación de bacterias ácido lácticas encapsuladas resultó eficaz para extender significativamente la durabilidad de los productos de panadería artesanal como por ejemplo panes tradicionales, panes de masa madre o baguettes dando lugar a una prolongación de la vida útil en anaquel de hasta 2 días adicionales con éxito.

En un estudio realizado por Luz et al. (2021) se emplearon bacterias ácido lácticas (BAL), reconocidas por su capacidad para inhibir el crecimiento de hongos. Estas BAL

fermentaron el suero de Mozzarella de Búfala durante 72 horas a 37 °C, esto dio lugar al suero fermentado (BWF). Este BWF fue caracterizado y utilizado como bioconservante en la elaboración de pan, lo cual demostró efectos positivos en la prolongación de su vida útil. Las cepas específicas de *Lactobacillus plantarum* (TR7 y TR2) presentaron una alta concentración de ácido láctico en el BWF durante su fermentación, fortaleciendo su capacidad bioconservante. El análisis de compuestos orgánicos volátiles (COV) del pan reveló cambios significativos al utilizar BWF, sugiriendo mejoras potenciales en su sabor y aroma. Además, el pan tratado con extracto de BWF mostró un incremento en su actividad antioxidante, evaluada mediante el ensayo Radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH), lo que podría implicar beneficios adicionales para la salud. En conclusión, el uso de BWF como bioconservante prometió prolongar la vida útil del pan comparado con métodos conservantes tradicionales como el propionato de calcio.

Dopazo et al. (2023) en su estudio evaluación de la vida útil y propiedades tecnológicas del pan elaborado con suero de leche fermentado con bacterias del género ácido láctico como ingrediente bioactivo menciona que, la adición de suero fermentado en una concentración del 5 % aumentó la aparición de metabolitos antifúngicos como el ácido láctico y ácido feniláctico lo que logró alargar la vida útil del pan contaminado con *Aspergillus flavus* y *Penicillium verrucosum*, y redujo significativamente su población luego de 7 días en comparación con un pan convencional.

Considerando a Izzo et al. (2020) afirma que la inclusión de suero de leche fermentado resultó en una prolongación de la vida útil del pan de pita. Después de la aplicación de *Penicillium* en la superficie del pan, se pudo observar un incremento en la duración hasta el día 8 en comparación con el grupo de control positivo. Además, en condiciones de contaminación natural, se registró una extensión de la vida útil hasta el día 19. Estos hallazgos sugieren que la adición de suero fermentado puede ser eficaz para aumentar la longevidad del pan de pita y protegerlo contra la proliferación de microorganismos dañinos. Desde el punto de vista antimicrobiano, se observó que, al reemplazar toda el agua en la masa con suero fermentado, se logró la mayor reducción (100 %) en el crecimiento de hongos. El uso exclusivo de suero fermentado como sustituto del agua en la masa demostró ser efectivo para inhibir el crecimiento de hongos completamente.

2.2.Marco teórico

2.2.1. Leche

La leche de vaca es un componente esencial en la alimentación de los seres humanos durante todas las etapas de la vida. Su procesamiento industrial ha facilitado su disponibilidad para la población en general, tiene un impacto significativo en la mejora de la salud. Desde una perspectiva de su composición, la leche es un alimento completo y balanceado, que proporciona una concentración elevada de nutrientes en relación con su aporte calórico. Por lo tanto, se considera necesario incluirla en la dieta desde la infancia hasta la edad adulta avanzada. Los beneficios de la leche de vaca no se limitan únicamente a su valor nutricional, sino que también se extienden a la prevención de diversas

enfermedades, como las enfermedades cardiovasculares, ciertos tipos de cáncer, la hipertensión arterial, así como a la salud ósea y bucal. Además, la leche puede desempeñar un papel importante en la lucha contra el exceso de peso y la obesidad infantil (Fernández et al., 2015).

2.2.2. Queso

La palabra "queso" proviene del término en latín "*caseus*". Se trata de un sólido que se obtiene a partir de la leche cuajada de diversos mamíferos como; vacas, ovejas, cabras, búfalos y camellos, entre otros. En este proceso, los expertos en la materia señalan que la leche se coagula mediante la acción combinada de cuajo y una cierta acidificación. Bacterias desempeñan un papel esencial en este proceso al acidificar la leche y al definir la textura y el sabor característicos de cada tipo de queso (Pérez y Gardey, 2023).

2.2.3. Suero de leche

El suero de leche, conocido también como lactosuero, se denomina al subproducto lácteo que se obtiene durante la fabricación del queso. Aunque no puede considerarse como un sustituto completo de la leche de vaca debido a que es una fracción de esta, el suero de leche contiene nutrientes y compuestos que poseen potenciales beneficios nutricionales y funcionales. Entre estos nutrientes, el calcio puede encontrarse en cantidades significativas, donde llega a representar hasta el 90 % de la concentración inicial de este mineral en la leche. Se ha evidenciado que el calcio presente en el suero lácteo exhibe una mayor biodisponibilidad, incluso supera a las sales minerales utilizadas en la fortificación de alimentos o como suplementos nutricionales. Esta mayor biodisponibilidad se atribuye al contenido de nutrientes presentes en el suero, especialmente proteínas y lactosa. Cabe destacar que la tecnología empleada en el procesamiento del suero puede influir en la concentración y biodisponibilidad del calcio en el producto final (Poveda et al., 2013).

2.2.4. Fermentación de alimentos por bacterias ácido lácticas.

La fermentación de varios productos mediante bacterias ácido lácticas es una técnica ancestral para conservar alimentos. Aunque se conoce desde hace más de un siglo el antagonismo entre bacterias, recientemente ha recibido mayor atención científica, especialmente en cuanto al uso de diversas cepas de estas bacterias. Algunas cepas han demostrado ser efectivas contra patógenos alimentarios como bacterias, levaduras y hongos. Además, estudios recientes han destacado su capacidad para neutralizar micotoxinas producidas por estos microorganismos. La actividad antimicrobiana de las bacterias del ácido láctico se basa principalmente en la producción de ácido láctico, ácidos orgánicos, hidroperóxidos y bacteriocinas. También se sugieren otros mecanismos que podrían contribuir a esta actividad. Estas propiedades son significativas, ya que podrían sustituir métodos de conservación químicos y físicos por métodos biológicos basados en bacterias y metabolitos. La bioconservación, que implica extender la vida útil y mejorar la seguridad alimentaria mediante el uso de microorganismos o sus metabolitos controlados, podría ofrecer una alternativa sostenible a los conservantes químicos (Zapašnik et al., 2022).

2.2.5. Suero de leche fermentado con bacterias ácido lácticas

El suero de leche fermentado con bacterias ácido lácticas resulta de la acción de cepas específicas de dichas bacterias sobre el suero de leche. Durante este proceso, las bacterias metabolizan los azúcares presentes, como la lactosa, generando ácido láctico como subproducto. Esta fermentación conlleva cambios en las características organolépticas y nutricionales del suero, afectando su sabor, textura y propiedades fisicoquímicas, lo que podría resultar en un producto con mayor valor añadido y potenciales beneficios para la salud (Izzo et al., 2020).

Las bacterias ácido lácticas utilizadas en la fermentación pueden incluir especies como *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus* y *Bifidobacterium*. Estas bacterias son conocidas por sus propiedades beneficiosas, como la capacidad de mejorar la digestión de la lactosa en personas intolerantes a la misma, promover la salud intestinal y fortalecer el sistema inmunológico (Dopazo et al., 2023).

Es esencial disponer de una fuente constante de energía para asegurar la supervivencia de las bacterias lácticas. En el suero de leche, esta provisión de energía se obtiene principalmente de la lactosa, que constituye la fuente de carbono más fácilmente accesible, se debe tener en cuenta que la composición y las propiedades del suero de leche fermentado pueden variar dependiendo de los tipos de bacterias ácido lácticas utilizadas, las condiciones de fermentación y otros factores relacionados con el proceso de producción (Benavides, 2019).

2.2.6. Actividad Antimicrobiana

La actividad antimicrobiana se refiere a la capacidad de una sustancia, compuesto químico, producto natural o agente biológico para inhibir el crecimiento o la supervivencia de microorganismos, como bacterias, hongos, virus u otros patógenos. Esta actividad puede manifestarse de diversas formas, como la inhibición del crecimiento microbiano, la destrucción de los microorganismos o la interferencia en sus procesos metabólicos. La actividad antimicrobiana es importante en diversas aplicaciones, incluida la industria alimentaria, farmacéutica, cosmética y salud pública, donde se utilizan agentes antimicrobianos para prevenir la contaminación de alimentos y productos, tratar infecciones bacterianas o fúngicas y promover la higiene y la seguridad microbiológica. Los agentes antimicrobianos pueden ser naturales, como ciertos extractos de plantas o aceites esenciales o sintéticos, como los antibióticos y desinfectantes químicos (Sánchez, 2016).

La actividad antifúngica se refiere al fenómeno mediante el cual una sustancia, ya sea de origen natural o sintético, puede reducir el desarrollo o incluso causar la muerte de los hongos que infectan un organismo, sin ocasionar perjuicios al huésped (Mañuico, 2023).

2.2.7. *Lactobacillus plantarum* y sus características.

L. plantarum es una especie de bacteria ácido láctica que se encuentra en diversos ambientes, como vegetales fermentados, productos lácteos y el tracto gastrointestinal

humano. El número de investigaciones que respaldan los efectos probióticos de *Lactobacillus plantarum* está en aumento y destaca por su capacidad de adaptación y plasticidad genómica. Además, otra característica importante de *L. plantarum* es su capacidad para producir diversas y potentes bacteriocinas, que son péptidos antimicrobianos con posibles aplicaciones como conservantes de alimentos o como complemento a los antibióticos (Seddik et al., 2017).

Conforme a Seddik et al. (2017) esta bacteria presenta varias características distintivas:

- a) **Adaptabilidad:** *L. plantarum* tiene una gran capacidad de adaptación a diferentes condiciones ambientales, lo que le permite sobrevivir y prosperar en una amplia gama de nichos ecológicos.
- b) **Producción de metabolitos:** *L. plantarum* tiene la capacidad de producir una variedad de metabolitos, como ácidos orgánicos, enzimas digestivas y sustancias antimicrobianas, que pueden desempeñar un papel en la promoción de la salud y la inhibición de microorganismos patógenos.
- c) **Bacteriocinas:** *L. plantarum* produce bacteriocinas, que son péptidos antimicrobianos con propiedades de inhibición contra bacterias patógenas. Estas bacteriocinas pueden tener aplicaciones potenciales como conservantes de alimentos o como agentes complementarios a los antibióticos.
- d) **Efectos probióticos:** Se ha demostrado que *L. plantarum* tiene efectos beneficiosos para la salud humana, como la mejora de la salud intestinal, la modulación del sistema inmunológico y la prevención de enfermedades. Estos efectos se atribuyen en parte a su capacidad para colonizar el tracto gastrointestinal y mantener un equilibrio microbiano saludable.

Figura 1

Lactobacillus plantarum



Nota. Bacteria grampositiva del género *Lactobacillus*. Visualmente, se distingue por su forma alargada y bacilar. (Ibrahim Abdulgawad, 2016)

2.2.8. El pan

El pan es un alimento básico que se elabora a partir de una masa, la cual puede ser fermentada o no. La base de la masa es harina y agua potable, a la que se puede añadir levadura, sal y otras sustancias permitidas para este tipo de productos (NTE INEN 2495, 2014).

Según Ordoñez et al. (2010) el pan es un alimento rico en carbohidratos, proporciona energía necesaria para el funcionamiento del organismo, además, contiene una variedad de nutrientes esenciales como proteínas, vitaminas del grupo B, minerales como hierro, calcio, y fibra dietética. Estos nutrientes son esenciales para el crecimiento y desarrollo adecuado, así como para mantener una buena salud en general.

Como señala el Ministerio de Salud Pública [MSP] (2023), el pan y los cereales deben formar parte de una alimentación equilibrada y se recomienda consumir al menos 6 porciones al día de alimentos ricos en carbohidratos, como el pan. Esta recomendación se basa en las necesidades energéticas de la población y en los beneficios nutricionales que aporta este alimento.

2.2.9. Cambios físicos y químicos durante la conservación del pan.

Durante el almacenamiento del pan, pueden ocurrir cambios físicos y químicos que afectan su frescura y calidad. Algunos de estos cambios incluyen la pérdida de humedad, la retrogradación del almidón, la oxidación de lípidos y las reacciones de Maillard. Estos procesos pueden influir en la textura, sabor y aspecto del pan. El pan es susceptible al crecimiento de microorganismos, como bacterias y hongos, que pueden causar deterioro y afectar su vida útil. Es importante comprender los principales microorganismos

involucrados en el deterioro del pan y las condiciones que favorecen su crecimiento, como la humedad y la temperatura (Jaramillo, 2020).

2.2.10. Métodos de conservación del pan

El pan es altamente susceptible a la contaminación por moho. El proceso de enfriamiento, rebanado y empaquetado crea condiciones óptimas para la incubación de moho debido a la alta humedad del pan, que puede alcanzar alrededor del 38 % (Tejero, 2019).

Este mismo autor indica que los panaderos tienen a su disposición varios métodos para combatir el crecimiento de moho las cuales son:

- a) **Luz ultravioleta:** Se utiliza para desinfectar el ambiente y controlar la propagación del moho. Aunque no es muy efectivo directamente sobre la superficie del pan, se puede aplicar en salas de enfriamiento, áreas de empaquetado y transportadoras.
- b) **Microondas:** Consiste en someter el pan una vez rebanado y empaquetado a la acción de microondas. Esto se utiliza un horno de banda transportadora a una frecuencia de 2450 megaciclos/segundos para alcanzar una temperatura de 66 °C durante 30 segundos a 2 minutos.
- c) **Envasado aséptico:** Implica enfriar, cortar y envasar el pan en condiciones estériles. El envasado puede ser descontaminado mediante luz ultravioleta o mediante la aplicación de agentes antimicrobianos como propionato cálcico al 10 % o sorbato potásico al 5 %.
- d) **Envasado en atmósfera modificada:** Este método implica reemplazar el aire del interior de la bolsa de plástico por otro gas. Al eliminar el aire, que es necesario para la germinación del moho, se logra un efecto fungicida que prolonga la conservación del pan.
- e) **Conservantes químicos:** La adición de conservantes o antimohos está regulada por normativas, que establecen cantidades máximas permitidas para cada aditivo. Estos conservantes interfieren en la acción de la levadura, retrasa la fermentación. Por lo tanto, se requiere agregar más levadura para compensar el tiempo de fermentación. Algunos conservantes efectivos para el pan de molde son el propionato cálcico, sorbato potásico y ácido sórbico.

2.2.11. Crecimiento microbiano en el pan

Un estudio realizado por Jaramillo (2020) nos menciona que el crecimiento de microorganismos, incluidos hongos y bacterias, es uno de los principales factores que contribuyen al deterioro del pan, en el mismo estudio se encontró que la presencia de hongos y bacterias en el pan está relacionada con condiciones de almacenamiento inadecuadas, como alta humedad y temperaturas cálidas. Estos microorganismos pueden causar cambios sensoriales, como mal olor y sabor, así como deterioro visual, como la formación de moho. El crecimiento de hongos y mohos en el pan es un fenómeno común que contribuye al deterioro del producto. Estos microorganismos son responsables de cambios sensoriales, como mal olor, sabor desagradable y apariencia no deseada en forma de manchas o crecimiento visible en la superficie del pan.

Existen varios factores que favorecen el crecimiento de hongos y mohos en el pan, incluyen:

- a) **Humedad:** Según Pino (2020) un alto nivel de humedad en el pan crea un ambiente ideal para el crecimiento de mohos, levaduras y algunas bacterias. Estos microorganismos utilizan el agua presente en el pan para desarrollarse y descomponer los nutrientes, altera el sabor, la textura y la apariencia del producto. Para prolongar la vida útil del pan, es fundamental controlar la humedad mediante un adecuado empaquetado, almacenamiento en condiciones frescas y secas, y en algunos casos, la adición de conservantes. La humedad, al proporcionar un medio acuoso y nutrientes, acelera los procesos de deterioro microbiano en el pan.
- b) **Temperatura:** De acuerdo con De la Cruz (2018) las altas temperaturas crean las condiciones ideales para que los hongos y mohos se multipliquen rápidamente en el pan.
- c) **Contaminación cruzada:** Considerando a García et al, (2019) la contaminación cruzada, es decir, el contacto con alimentos contaminados o superficies infestadas de hongos y mohos favorece el crecimiento de estos microorganismos en el pan.
- d) **Calidad de los ingredientes:** Valerio et al, (2017) menciona que la calidad de los ingredientes, especialmente de la harina, influye directamente en la aparición de hongos y mohos en el pan. Las esporas de estos microorganismos, presentes en ingredientes contaminados, pueden sobrevivir al proceso de elaboración y desarrollarse en el producto final, afectando su calidad y seguridad alimentaria.

Para prevenir el crecimiento de hongos y mohos en el pan, se pueden implementar medidas de control, como:

- Mantener una buena higiene durante el proceso de fabricación del pan.
- Almacenar el pan en condiciones adecuadas, preferiblemente en un ambiente fresco y seco.
- Utilizar empaques herméticos para proteger el pan de la humedad y la contaminación.
- Controlar la calidad de los ingredientes utilizados en la elaboración del pan. (Jaramillo, 2020)

Es importante destacar que el crecimiento de hongos y mohos en el pan no solo afecta la calidad sensorial, sino que también puede tener implicaciones para la seguridad alimentaria. Algunos hongos y mohos pueden producir toxinas peligrosas para la salud humana, por lo que es esencial prevenir su crecimiento y consumo de productos contaminados (Jaramillo, 2020).

2.2.12. Vida útil de un producto

La vida útil de un alimento se define como el período en el que, bajo condiciones controladas de almacenamiento, experimenta pérdida de sus propiedades sensoriales y fisicoquímicas, así como cambios en su perfil microbiológico. Esto implica que el alimento debe permanecer seguro para el consumo, conservar sus características sensoriales,

fisicoquímicas, microbiológicas y funcionales deseadas, y cumplir con las declaraciones nutricionales o de propiedades saludables, siempre que se mantengan las condiciones de conservación adecuadas. Es crucial entender los diversos mecanismos de deterioro que pueden afectar al alimento, como la pérdida de sus cualidades sensoriales, la disminución de las propiedades nutricionales y saludables declaradas, y eventualmente la pérdida de su inocuidad, para determinar con precisión su vida útil (Gutierrez, 2020).

CAPÍTULO III. METODOLOGÍA.

3.1. Tipo de Investigación

El estudio se adhirió a los principios metodológicos de una investigación cuantitativa por la naturaleza de sus objetivos. Este enfoque cuantitativo permitió una evaluación rigurosa y precisa de los efectos de la adición de suero fermentado en la calidad y propiedades del pan elaborado. Conjuntamente, se llevó a cabo una revisión bibliográfica para obtener información relevante sobre la concentración óptima en este proceso. Las variables numéricas fueron operadas con el fin de llevar a cabo los análisis estadísticos necesarios.

Adicionalmente, corresponde a una investigación de tipo experimental, ya que, se elaboró pan mediante diferentes concentraciones de suero fermentado a través de pruebas preliminares, con ello se pudo observar el efecto resultante en la variable dependiente. Se compararon con dos tratamientos control; uno utilizando una base de pan estándar y otro reemplazando el suero de leche por agua, según la metodología del autor.

Una vez se determinó la concentración óptima mediante un análisis microbiológico al día 1, 8 y 15, por triplicado, se analizó las características fisicoquímicas y microbiológicas del tratamiento ganador con respecto a un pan convencional como control de calidad en el producto terminado donde se definió las ventajas de este fermento.

3.2. Diseño de investigación

3.2.1. Unidad Estadística

Suero de quesería fermentado con la cepa *Lactobacillus plantarum*.

Pan elaborado con suero fermentado con la cepa *Lactobacillus plantarum*.

3.2.2. Lugar de estudio

La investigación se realizó en la carrera de Agroindustria de la Universidad Nacional de Chimborazo campus 1.5 km vía Guano.

La elaboración de los panes se realizó en el laboratorio de procesos y los análisis fisicoquímicos - microbiológicos en el laboratorio de Control de Calidad.

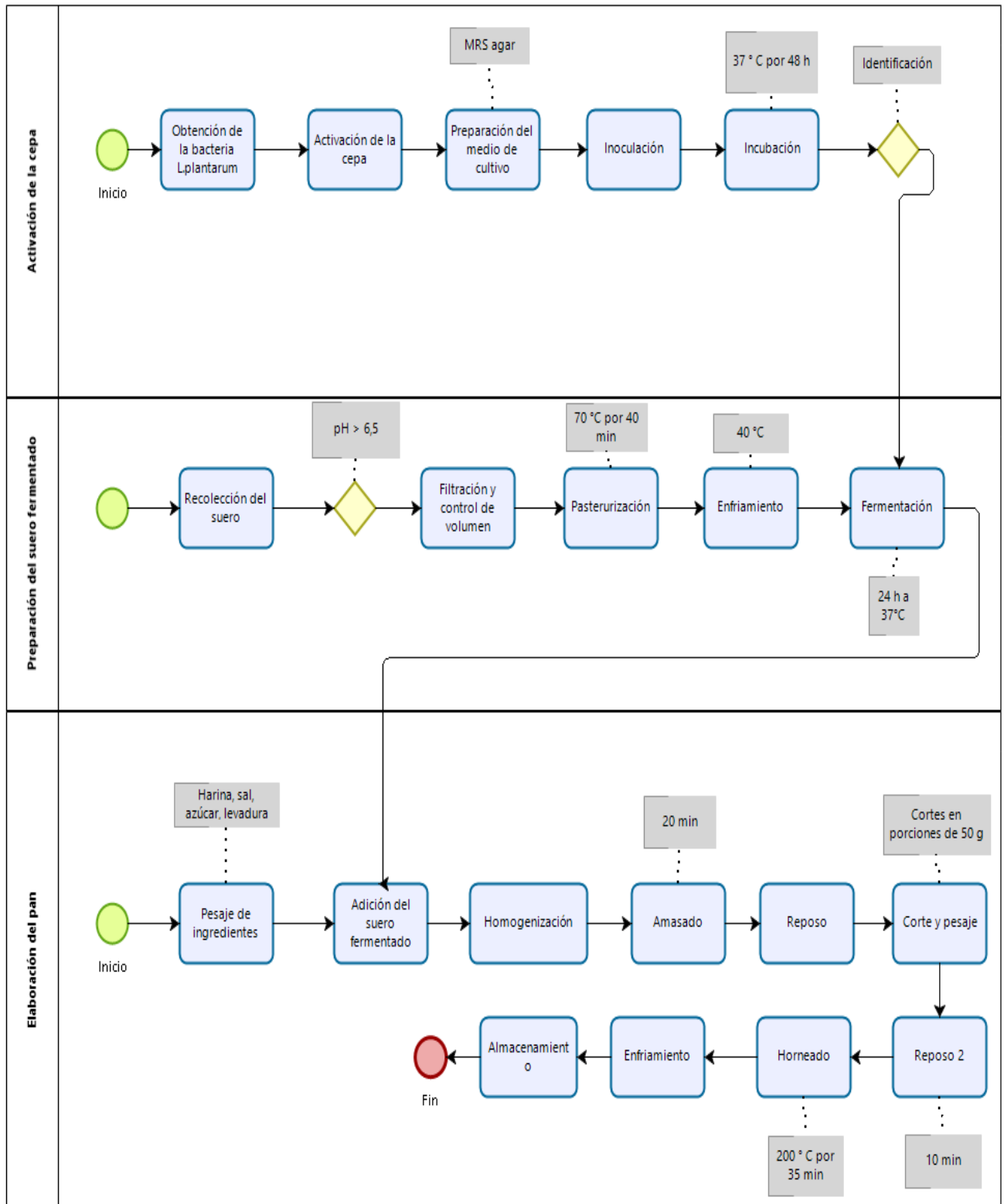
3.2.3. Procedimiento Experimental

Diagrama de flujo

El procedimiento se dividió en tres fases: primero, se activó la cepa de *Lactobacillus plantarum*; luego, se preparó el suero fermentado utilizando esta cepa; y finalmente, se llevó a cabo la producción del pan incorporando el suero fermentado.

Figura 2

Diagrama de flujo del proceso



Nota. El programa utilizado para la elaboración de este diagrama de flujo fue Bizagi.

Descripción del proceso

Activación de la cepa

Se consiguió *Lactobacillus plantarum* de la empresa "Foods for Gut" como un probiótico de cepa individual en polvo. Luego, se tomó 2 g del probiótico y se colocó en 20 ml de suero fisiológico, homogeneizándolo con un asa microbiológica. Este proceso se llevó a cabo para evaluar su actividad antifúngica y determinar su idoneidad para la investigación.

Para el cultivo de la cepa, se empleó MRS agar, seleccionado por su capacidad para proporcionar condiciones óptimas para el crecimiento y viabilidad de *Lactobacillus plantarum* lo que garantizó un entorno propicio para sus características metabólicas y su reproducción (Thermo Scientific, 2024).

En el proceso de inoculación se eligieron hisopos como vehículo de inoculación. Posteriormente, se incubó a 37°C durante 48 horas siguiendo las indicaciones del medio de cultivo. Finalmente, se llevó a cabo la identificación mediante tinción de Gram, una técnica utilizada para clasificar bacterias según las características de su pared celular en Gram positivas y Gram negativas.

Actividad antifúngica

Se prepararon placas Petri con medio PDA agar, y se inoculó el cultivo de *Penicillium* aislado obtenido en la provincia de Bolívar en el cantón Chillanes. Luego, se incubó la placa a 37 °C durante 24 horas.

Después de las 24 horas y la observación del correcto crecimiento del hongo, se colocaron discos de papel de filtro estériles en el suero fermentado de la cepa *Lactobacillus plantarum* y un blanco de suero fisiológico en el medio PDA agar durante 24 horas a 37 °C.

Se observó un halo de inhibición de 12 mm alrededor del disco de papel de filtro que contenía la suspensión de *Lactobacillus plantarum*. Este halo indicó que la cepa *Lactobacillus plantarum* inhibió el crecimiento de *Penicillium* en un diámetro de 12 mm mientras que en el blanco no existió halo de inhibición. De acuerdo con Izzo et al. (2020) en su evaluación de actividad antifúngica realizada después de la incubación, los halos mayores a 8 mm se consideraron como positivos, lo que sugiere que el área de inhibición obtenida en este estudio arrojó resultados favorables contra *Penicillium*.

Preparación del suero de quesería fermentado

Se trabajó con suero de quesería dulce mismo que fue abastecido por la empresa Productos Alimenticios San Salvador y fue recolectado en recipientes plásticos previamente esterilizados y transportados a 4 °C hacia los laboratorios de la Carrera de Agroindustria en donde se formuló los diferentes tratamientos para la elaboración del pan.

Se tomaron 3.500 ml de suero para los posteriores análisis con un pH mayor a 6,5.

Consecutivamente se realizó la filtración y el control de volumen en el suero como parte del control de calidad para garantizar la pureza y precisión del producto final.

De acuerdo con Dopazo et al. (2023) se procedió con la pasteurización del suero el cual indicó que la temperatura idónea fue de 70° C por 40 minutos en un baño maría lo que permitió eliminar la presencia de agentes patógenos en el suero. Luego se dejó enfriar el suero hasta una temperatura de 40°C.

Finalmente, en el proceso de fermentación, se tomaron muestras de suero pasteurizado de 200 ml donde se hicieron tres mediciones cada una de estas mediciones consistió en la obtención de muestras representativas del medio de fermentación. El volumen de 200 ml se seleccionó cuidadosamente para proporcionar condiciones adecuadas y suficientes nutrientes para sustentar el desarrollo microbiano.

La inoculación se realizó para introducir y propagar la cepa microbiana en el suero pasteurizado. Este suero servía como medio de cultivo propicio para el crecimiento de los microorganismos involucrados en el proceso de fermentación.

Se agregó 0,5 g, 1 g, y 1,5 g del probiótico *L. plantarum* en polvo a 200 ml de suero pasteurizado. La concentración del polvo fue de 400 billones de UFC/g es por esta razón que se realizó diluciones seriadas para una mayor facilidad de conteo. En el conteo una vez listas las diluciones se colocaron en el medio de cultivo MRS agar, en donde se utilizó hisopos para su incubación. La mezcla se incubó durante 24 horas a 37 °C (Fajardo-Argoti et al., 2021).

Durante la incubación, las bacterias del *L. plantarum* se reactivaron sin problemas. Al final de las 24 horas, la mezcla tuvo una concentración de bacterias suficiente para su uso el cual se refleja en la tabla 1.

Tabla 1

Concentración de L. plantarum para cada tratamiento

Tratamientos	<i>L.plantarum</i> (gramos)	Concentración de <i>L.plantarum</i> (UFC/g)	Codificación
Control 1	0 g	0 UFC/g	TC
Control 2	0 g	0 UFC/g	TC2
Tratamiento 1	0,5 g	$3,90 * 10^5$ UFC/g	TS1
Tratamiento 2	1 g	$4,51 * 10^6$ UFC/g	TS2
Tratamiento 3	1,5 g	$2,04 * 10^7$ UFC/g	TS3

Nota. TC. Pan elaborado sin suero de leche; TC2. Pan elaborado con suero de leche sin fermentación; TS1. Pan elaborado con suero de leche fermentado con 0,5g de *L. plantarum*; TS2. Pan elaborado con suero de leche fermentado con 1g de *L. plantarum*; TS3. Pan elaborado con suero de leche fermentado con 1,5g de *L. plantarum*.

Elaboración del pan

Obtención de la materia prima empleada para la elaboración del pan: Los ingredientes del pan como la harina de trigo, azúcar, sal, levadura instantánea y aceite de oliva virgen extra se compraron en un supermercado de la ciudad de Riobamba, Ecuador. Se obtuvo agua destilada de los laboratorios de la Universidad Nacional de Chimborazo.

Pesaje de los ingredientes: Una vez realizados los ensayos preliminares y revisiones bibliográficas, se determinó la formulación más apropiada para el estudio, donde se pesó 200 g de harina, 4 g de azúcar 8 g de sal y 12 g de levadura para los diferentes tratamientos en una balanza analítica, esta parte del proceso de elaboración del pan es importante porque asegura la reproducibilidad de los resultados, la exactitud en la formulación, la minimización de errores experimentales y el cumplimiento de estándares y normativas, lo que en última instancia contribuye a la credibilidad de la investigación.

Adición: Se colocó los 200 ml del suero fermentado a los ingredientes a una temperatura de 40 °C.

Homogenización: Se mezcló y distribuyó uniformemente todos los componentes de la masa para lograr una consistencia equilibrada y garantizar la calidad final del pan.

Amasado: Se amasó durante 20 min esto influyó directamente en la textura final del pan. Cuanto más se amasa, más desarrollado estará el gluten, lo que contribuye a una miga más elástica y un pan más esponjoso.

Reposo 1: Se dejaron reposar las masas durante 60 min por cada tratamiento.

Corte y pesaje: Se llevaron a cabo cortes en la primera masa de pan, con el propósito de dividirla en porciones individuales. Cada una de estas porciones se pesó cuidadosamente, y se estimó que su peso rondaba los 40 g aproximadamente, el mismo procedimiento se ejecutó con las otras masas de pan.

Reposo 2: Se dejaron reposar a las piezas de 40 g durante un periodo de 15 min antes del horneado.

Horneado: El proceso de horneado se realizó a una temperatura constante de 200 °C durante un período de 35 minutos para cada tratamiento por separado. Durante esta etapa, se aplicó calor al pan a la temperatura indicada por el tiempo especificado.

Enfriamiento: Se dejó enfriar a una temperatura ambiente de aproximadamente 17°C, El enfriamiento completo del pan antes de almacenarlo ayudó a prevenir la condensación de la humedad en su interior, lo que podría contribuir a la proliferación de mohos o bacterias.

Almacenamiento: Finalmente se colocó a las piezas de pan en recipientes inocuos por separado para facilitar los posteriores análisis.

3.3. Técnicas de recolección de datos

3.3.1. Análisis de laboratorio

Caracterización fisicoquímica y microbiológica del suero

Se llevaron a cabo análisis microbiológicos tanto en el suero fresco como en el pasteurizado, así como en los sueros a los que se les añadió la cepa *Lactobacillus plantarum*. Este enfoque se diseñó con el objetivo de garantizar la mejor calidad del suero y asegurar así la calidad del pan resultante. Los análisis microbiológicos incluyeron la detección y enumeración de diversos microorganismos, permitiendo evaluar la eficacia de la pasteurización y el impacto de la adición de *L. plantarum* en el microbiota del suero. Estos análisis representan un paso fundamental en la investigación, ya que proporcionó cantidades idóneas para garantizar la seguridad microbiológica del suero y, por ende, del producto final, contribuyendo a asegurar la calidad y aceptabilidad del pan elaborado.

Además de los análisis microbiológicos, se hicieron análisis fisicoquímicos detallados para caracterizar el suero en cuanto a sus propiedades físicas y químicas. Estos análisis incluyeron la determinación de la cantidad de grasa, densidad, proteína, lactosa y sólidos presentes en el suero, así como la medición del pH y la acidez en grados Dornic (°D). Esta evaluación fue de suma importancia, ya que brindó información precisa sobre la composición y las características físicas del suero antes y después de la adición de *L. plantarum*. Identificar cualquier cambio en estos parámetros proporcionó una comprensión más profunda de cómo la introducción de este probiótico podría afectar la composición y la calidad del suero, lo que resulta fundamental para evaluar su capacidad en aplicaciones posteriores en la industria alimentaria.

Caracterización del pan.

La caracterización fisicoquímica del pan se elaboró bajo la norma NTE INEN 2495, (2014) donde los requisitos que se establecen en esta norma corresponden a humedad grasa y proteína pero además se analizó el porcentaje de cenizas, por otro lado, el análisis microbiológico se elaboró bajo la normativa Oficial Mexicana NOM-247-SSA1-2008 en donde se determinó la presencia de mohos, levaduras), *Staphylococcus aureus*, mesófilos y coliformes totales, finalmente no se evaluó la presencia de la cepa *Lactobacillus plantarum* en el producto terminado debido a que la mayor parte de este microorganismo muere en el proceso de horneado.

Métodos de análisis para la caracterización fisicoquímica y microbiológica del pan

Para el análisis de las características fisicoquímicas del pan se realizaron bajo las siguientes normativas y métodos de ensayo que se describen a la tabla 2.

Tabla 2*Métodos de análisis para la caracterización fisicoquímica del pan*

Variable	Método de ensayo	Descripción	Materiales y Equipos	Unidad de medida
Humedad NTE INEN ISO 712	Gravimétrico	Análisis para determinar el contenido de humedad en un alimento, debido a la evaporación del agua que contiene. Técnica de extracción sólido-líquido utilizada para separar un compuesto soluble de una matriz sólida mediante un proceso de reflujo continuo.	Estufa, desecador, balanza analítica. Crisoles de porcelana y pinzas	(%) de humedad
Grasa NTE INEN 0523	Método Soxhlet	Análisis para determinar el contenido de nitrógeno total de la muestra, el cual se utiliza para calcular el contenido de proteína.	Equipo Soxhlet Estufa, desecador, plancha, cartuchos para muestras	(%) de grasa
Proteína NTE INEN ISO 20483	Micro Kjeldahl 1	Análisis para determinar el contenido de nitrógeno total de la muestra, el cual se utiliza para calcular el contenido de proteína.	Aparato Kjeldahl para digestión y destilación, matraz Kjeldahl, matraz Erlenmeyer, bureta, probetas, balanza analítica	(%) de proteína
Cenizas NTE INEN 520: 2012	Gravimétrico	Análisis para determinar el contenido de minerales inorgánicos presentes en una muestra	Mufla, desecador, balanza analítica. Crisoles de porcelana y pinzas	(%) de cenizas
Mohos y levaduras <i>Staphylococcus aureus</i> <i>E. coli</i> <i>Mesófilos aereobios</i> NOM-247-SSA1-2008	Recuento en placa	Método que implica la siembra de una muestra en medios de cultivo adecuados y el posterior recuento de colonias microbianas formadas después de un período de incubación.	Placas Petrifilm Pipetas Vasos de precipitados o tubos de ensayo Incubadora Pipetas estériles Lámpara de esterilización UV Alcohol etílico o desinfectante Rotulador	UFC/g

Materiales y equipos

En la Tabla 3 se describen los materiales y equipos empleados para este estudio

Tabla 3

Materiales y equipos

MATERIALES	
Materia Prima	Suero de leche, harina de trigo, levadura, azúcar, sal, aceite de oliva, agua destilada
Microorganismos	<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>penicilium</i> aislado
Medios de Cultivo	MRS agar (<i>Lactobacillus</i>), PDA agar (Mohos y Levaduras) Microfast
Materiales de microbiología	<i>E. Coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , Mohos y Levaduras, <i>Aerobios mesofilos</i>
Equipos de laboratorio	Cámara de flujo laminar (Biobase), autoclave (Tuttnauer), incubadora (Mermmet), ultracongelador, baño María, bomba al vacío (Vacuum pump), balanza analítica (Mklab), mufla (Thermo Scientific), estufa (Mermmet), Analizador de suero (Master Eco)

Nota. Para los análisis microbiológicos se utilizó Microfast proporcionado por la empresa CAPILAB.

3.4. Población de estudio y tamaño de muestra

La población está conformada por 3.500 ml de suero fermentado con *Lactobacillus plantarum*, 200 ml para cada tratamiento experimental. Se elaboró 120 panes y las muestras dependiendo del análisis necesario.

3.5. Métodos de análisis, y procesamiento de datos.

Los datos generados a partir de los análisis se procesaron con un software estadístico SPSS para determinar la significancia entre los tratamientos, para ello se realizó un análisis exploratorio de datos identificando las medidas de tendencia central especialmente la media, lo que luego permitió elaborar un diseño en bloques completo al azar, un test de Tukey que determinó la existencia de significancia entre los tratamientos y la elección del mejor tratamiento con un nivel de significancia de 5 %. Finalmente se

realizó una prueba de hipótesis unilateral de área derecha para la media con varianza desconocida.

ANOVA

El análisis de varianza (ANOVA) es técnicas estadísticas de notable utilidad y flexibilidad. Se usa con provecho en situaciones donde se deben comparar más de dos grupos, cuando se repiten en más de dos ocasiones, cuando los sujetos exhiben variaciones en una o más características que influyen en el resultado y se precisa ajustar su efecto, o cuando se busca analizar simultáneamente el impacto de múltiples variables predictoras sobre una variable respuesta(Dagnino, 2014).

TUKEY

El método de Tukey se utiliza en ANOVA para crear intervalos de confianza para todas las diferencias en parejas entre las medias de los niveles de los factores mientras controla el margen de error por grupo en un nivel especificado. Es importante considerar el margen de error por grupo cuando se hacen comparaciones múltiples, porque la probabilidad de cometer un error para una serie de comparaciones es mayor que el margen de error para cualquier comparación individual(Salazar, 2019).

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Determinación de formulaciones

Para la determinación de las formulaciones se llevó a cabo pruebas preliminares lo cual permitió verificar si los procedimientos realizados previamente en otros estudios podrían ser viables en la elaboración de nuestro pan, es así como después de realizar distintas pruebas se pudo identificar las diferencias de condiciones que existían en otros estudios en comparación con este, lo que contribuyó en una optimización de recursos.

En la tabla 4 se presentan las revisiones bibliográficas que fueron fundamentales para el desarrollo de este trabajo. Esto sirvió como punto de partida para la planificación y ejecución del presente estudio. Cada uno de ellos ha sido previamente validado en estudios anteriores, lo cual proporcionó confiabilidad y seguridad de los efectos de la adición de *L. plantarum* en la elaboración del pan.

Tabla 4

Revisiones bibliográficas

Autor	Tema	Metodología	Resultados
(Dopazo et al., 2023)	Evaluación de vida útil y propiedades tecnológicas de pan elaborado con suero fermentado de bacterias lácticas como ingrediente de bioconservación.	El ingrediente estudiado, el suero fermentado, se añadió en diferentes concentraciones: 5 g (1 % suero fermentado), 25 g (5 % suero fermentado) y 50 g (10 % suero fermentado).	El pan tratado con un 5 % de suero fermentado en cuestión redujo la presencia de mohos y levaduras en comparación con el pan sin tratamiento.
(Izzo et al., 2020)	Suero fermentado utilizando cepas de <i>Lactobacillus plantarum</i> un enfoque prometedor para aumentar la vida útil del pan de pita	Se preparó pan de pita con 1 % de suero liofilizado fermentado por <i>L. plantarum</i> . pan pita sustituyendo el 100% del agua de la masa por suero líquido fermentado con <i>L. plantarum</i>	Se extendió aún más la vida útil del pan de pita agregando suero líquido o liofilizado que había sido fermentado con cepas de <i>L. plantarum</i> .

Después de revisar la literatura científica y realizar pruebas preliminares, se determinó la composición de las formulaciones para cada tratamiento. Estas formulaciones en relación masa volumen consistían en 0,25 % correspondiente al TS1; 0,5 % el cual pertenece al TS2; y finalmente, se empleó el 0,75% correspondiendo al TS3 donde la masa representó la cantidad de cepa probiótica de *L.plantarum* en polvo en 200 ml de suero pasteurizado. Para el estudio de Dopazo et al. (2023), se adicionaron 5g (1 %), 25 g (5 %) y 50 g (10 %) de suero fermentado y liofilizado con la cepa probiótica. Es importante destacar que la concentración de UFC/g de la cepa probiótica utilizada en este estudio fue superior a la reportada en investigaciones previas, tanto por Dopazo et al. (2023) como por Izzo et al. (2020) lo que evidencia una diferencia en relación del porcentaje (m/v). Es fundamental destacar que, aunque todos sean *Lactobacillus plantarum*, las cepas CECT 220, 221, 223 y 748 utilizadas por Izzo et al. (2020), así como la 5L1 utilizada por Dopazo et al. (2023), tienen diferencias genéticas y características únicas esto generó distintas capacidades metabólicas y funcionales. El polvo probiótico de *Lactobacillus plantarum* utilizado en este estudio contiene un grupo amplio de bacterias con características comunes lo que explica la alta concentración que posee además que los resultados esperados se asemejaron con los estudios que utilizaron cepas específicas una vez utilizadas estas concentraciones.

Además, se optó por reemplazar el 100 % del agua por suero fermentado, siguiendo la metodología descrita por Izzo et al. (2020) quien demostró mejoras significativas en su producto al realizar esta sustitución.

Se determinó que la adición de $3,90 \times 10^5$ UFC/g para el TS1, $4,51 \times 10^6$ UFC/g para el TS2 y $2,04 \times 10^7$ UFC/g para el TS3 de *L. plantarum* en 200 ml de suero pasteurizado a las formulaciones de pan pudo asemejarse de manera significativa a la metodología empleada en estudios previos. Estas cantidades fueron seleccionadas tras un minucioso análisis de la literatura científica disponible y pruebas preliminares, donde se buscó establecer una base sólida para el desarrollo de nuestro estudio. Es así como en la tabla 5 se observa las formulaciones que se llevaron a cabo para cada tratamiento.

Tabla 5

Formulaciones para cada tratamiento

Tratamiento	Variable
TC	200 ml de agua
TC2	200ml de suero pasteurizado
TS1	200ml de suero fermentado ($3,90 \times 10^5$ UFC/g)
TS2	200ml de suero fermentado ($4,51 \times 10^6$ UFC/g)
TS3	200ml de suero fermentado ($2,04 \times 10^7$ UFC/g)

Nota. Se trabajó con la siguiente base para cada tratamiento experimental 200 g de harina, 4 g de azúcar 8 g de sal, 12 g de levadura

4.2. Caracterización microbiológica y fisicoquímica del suero

En la tabla 6 se presentan los resultados del análisis microbiológico de los diferentes tipos de suero que se empleó en este estudio.

Tabla 6

Análisis microbiológico del suero

Parámetro	Suero de quesería dulce	Suero pasteurizado	Suero fermentado 0,5 g	Suero fermentado 1 g	Suero fermentado 1,5 g
<i>Staphylococcus</i>					
<i>aureus</i>	5,33 ± 1,15	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<i>Mesófilos</i>	3,90E4 ±				
<i>aerobios</i>	3E3	303 ± 15	24,7 ± 1,25	24,3 ± 2,08	21,3 ± 2,51
<i>E. Coli/</i>					
<i>Coliformes</i>	0,00 ± 0	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<i>Mohos y</i>					
<i>levaduras</i>	7,67 ± 2,31	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

Nota. Los resultados de esta tabla están expresados en UFC/g.

De acuerdo con la normativa NTE INEN 2594 (2011) "Suero de leche líquido requisitos", la cantidad máxima de *Staphylococcus aureus* es de 100 UFC/g, en el presente estudio se detectó en el suero de quesería dulce o recién llegado una concentración muy por debajo del límite. Los mesófilos aerobios en el suero de quesería dulce se ubicaron dentro del rango aceptable, con valores inferiores a 40.000 UFC/g (límite máximo: 100.000 UFC/g). En cuanto a mohos y levaduras, se observó una concentración en el suero de quesería dulce también dentro de los límites permitidos. No se detectó presencia de *E. coli* en ninguna de las muestras. Estos resultados favorables permitieron avanzar al siguiente paso: la pasteurización del suero.

La aplicación de una temperatura de 70 °C durante 40 minutos durante el proceso de pasteurización resultó en la eliminación efectiva de microorganismos patógenos como el *S. aureus*, *mohos* y *levaduras*. Se pudo observar también la presencia de mesófilos aerobios después de la pasteurización los cuales se encontraban muy por debajo del límite permitido según la norma, esto pudo deberse a la esporulación de este tipo de bacterias como una respuesta a condiciones ambientales adversas (Rodríguez et al., 2021).

En la tabla 7 se puede observar el análisis fisicoquímico del suero desde la recepción hasta la adición de la cepa *L.plantarum*.

Tabla 7*Análisis fisicoquímicos del suero*

Parámetro	Suero de quesería fresco	Suero de quesería pasteurizado	Suero fermentado (0,5g)	Suero fermentado (1g)	Suero fermentado (1,5 g)
Grasa (%)	0,05 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,09 ± 0,01
Densidad (kg/m ³)	9,48 ± 0,21	9,32 ± 0,13	10,55 ± 0,05	10,87 ± 0,04	16,22 ± 0,07
Proteína (%)	2,33 ± 0,04	2,31 ± 0,06	2,63 ± 0,03	2,90 ± 0,02	3,98 ± 0,03
Lactosa (%)	3,50 ± 0,05	3,56 ± 0,06	3,40 ± 0,05	3,05 ± 0,04	2,03 ± 0,05
Sólidos (%)	6,33 ± 0,07	7,92 ± 0,01	8,18 ± 0,04	8,59 ± 0,06	10,90 ± 0,07
pH	6,60 ± 0,10	6,69 ± 0,10	4,96 ± 0,09	4,88 ± 0,10	4,79 ± 0,08
Acidez (°D)	15 ± 1,00	15,3 ± 1,00	78,13 ± 1,94	83,33 ± 1,76	87, 24 ± 1,87

Nota. Media ± desviación estándar de los análisis fisicoquímicos en el suero de quesería utilizado en la experimentación.

Grasa

Se identificaron varios cambios significativos en las características del suero fermentado en comparación con el suero de quesería dulce que se presentan a continuación. Se observaron pequeñas variaciones en el contenido de grasa entre los diferentes tipos de suero. Sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas, excepto en el tratamiento con 1,5 g de *Lactobacillus plantarum*, que presentó un valor de grasa láctea de 0,09 ± 0,01 %, encontrándose dentro de los parámetros establecidos por la (NTE INEN 2594, 2011).

En un estudio realizado por Contreras, (2021) titulado "Elaboración de películas comestibles a partir del suero de leche fermentado por bacterias ácido lácticas", se reportó un contenido de grasa de alrededor de 0,54 ± 0,21 %. La autora menciona que el nivel de grasa en el suero depende directamente de la riqueza en grasas de la leche utilizada, así como de la intensidad del trabajo mecánico aplicado antes y después de la coagulación. El porcentaje de grasa en este estudio es menor que el estudio realizado por Contreras (2021). Esto puede deberse a que se realizó una filtración previa a la fermentación, como se mencionó anteriormente. La filtración del suero puede remover parte de la grasa, reduciendo su contenido.

Densidad

Se identificó un incremento significativo en la densidad del suero fermentado al aumentar la concentración de *L. plantarum*. El valor más alto se alcanzó en el suero fermentado con 1,5 g de *L. plantarum*, donde la densidad llegó a 1,0162. En contraste, en

el estudio de Jumbo et al. (2023), que no incluyó filtración, se obtuvo un valor de 1,0784. Se estima que este valor de este estudio es relativamente bajo debido a la operación de filtración realizada.

Proteínas

Se observó un incremento en el contenido de proteínas tras la adición de la cepa probiótica. La cepa de 1,5 g resultó en la mayor concentración de proteínas, alcanzando un $3,98 \pm 0,03\%$. Este valor supera ampliamente el mínimo de 0,8% establecido por la norma y se asemeja a los resultados de Contreras López (2021), donde se reportó un contenido de proteínas de $3,04 \pm 0,23\%$ en su suero fermentado con bacterias ácido lácticas. Un estudio realizado por Fajardo (2021) nos menciona que las propias células de *L. plantarum* son una fuente de proteínas. A medida que las bacterias crecen y se multiplican en el suero, contribuyen al contenido proteico general del producto además que desde el punto de vista de Herrera (2021) esta cepa es una bacteria proteolítica, lo que significa que produce enzimas capaces de descomponer las proteínas en péptidos y aminoácidos más pequeños. Este proceso, conocido como proteólisis, puede aumentar la disponibilidad de aminoácidos.

Lactosa

Se encontró una relación inversamente proporcional entre la cantidad de cepa probiótica y la lactosa en el suero fermentado, donde el suero añadido 1,5 g de *L. plantarum* reflejó un $2,03 \pm 0,05\%$. Teniendo en cuenta a Benavides (2019) la cepa *L. plantarum*, es capaz de utilizar diversos sustratos presentes en el suero de leche como fuente de energía y nutrientes para su crecimiento y desarrollo. Entre los principales sustratos que alimentan a esta bacteria en este medio se encuentra la lactosa, el principal azúcar del suero de leche, es metabolizada por *L. plantarum* gracias a su naturaleza lactolítica. Esta capacidad le permite utilizar la lactosa como fuente de carbono y energía. Durante la fermentación del suero de leche, *L. plantarum* metaboliza la lactosa en ácido láctico, lo que contribuye a la acidificación del medio y a la conservación del producto es por esta razón que se pudo observar la disminución de la lactosa al agregar mayor cantidad de la cepa probiótica.

Sólidos totales

Se observó un aumento significativo en los sólidos totales del suero fermentado, siendo este incremento más pronunciado en el suero fermentado con mayor cantidad de *L. plantarum*. En este caso, el valor alcanzado fue de $10,90 \pm 0,07\%$, superando el valor reportado por Contreras (2021) de $6,42 \pm 0,49\%$. Este aumento en los sólidos totales podría atribuirse a que la cepa *Lactobacillus plantarum* se multiplica en el suero, aumentando la cantidad de biomasa bacteriana. Esta biomasa, compuesta principalmente de proteínas y otros componentes celulares, contribuye al aumento de los sólidos totales (Ramirez, 2022).

Acidez y pH

El pH del suero fermentado disminuyó comparado con el suero de quesería dulce. Esta reducción fue más pronunciada en el suero fermentado con mayor concentración de *L. plantarum*, alcanzando un valor mínimo de $4,79 \pm 0,08$. En contraste, Jumbo (2023) reportó valores de pH de 4,10 en su concentrado proteico fermentado con suero de quesería.

En concordancia con la disminución del pH, se observó un gran incremento en la acidez del suero fermentado en relación con el de quesería dulce. Este aumento fue más evidente en el suero fermentado con mayor cantidad de *L. plantarum*, donde alcanzó un valor de $87,4 \pm 1,87$ °D. En un estudio elaborado por Jumbo (2023) reportó valores de acidez de 200 °D en su concentrado proteico fermentado, lo que se atribuye a su mayor acidez inicial, posiblemente debido a la presencia de otros ingredientes.

Otra de las posibles causas del aumento de la acidez y la disminución del pH según Seddik et al. (2017) es que durante la fermentación con *L. plantarum* metaboliza la lactosa presente en el suero. *L. plantarum* es conocida por su habilidad para descomponer la lactosa en ácido láctico y otros ácidos orgánicos durante el proceso de fermentación. Este metabolismo genera una reducción significativa en el pH del suero, aumentando así la acidez total del producto. Además del ácido láctico, la bacteria puede producir otros metabolitos ácidos que contribuyen aún más a la acidez del suero fermentado.

En una segunda etapa se procedió a determinar el tratamiento óptimo durante la elaboración del pan con las diferentes concentraciones de suero y la observación de bacterias como *Staphylococcus aureus*, mesófilos aerobios, *Echericha Coli*, Mohos y levaduras con un factor adicional denominado día, en este factor se definió 3 niveles (día 1, día 8 y día 15), en este sentido se utilizó diseños en bloques completos al azar al 5% de significancia bajo el siguiente proceso.

Hipótesis del tratamiento

$$H_0: \mu_{T1} = \mu_{T2} = \mu_{T3} = \mu_{T4} = \mu_{T5}$$

H₁: Al menos un promedio de las bacterias y de las características fisicoquímicas es diferente

Hipótesis del bloque

$$H_0: \mu_{D1} = \mu_{D8} = \mu_{D15}$$

H₁: Al menos un promedio de las bacterias difiere con relación al número de días de durabilidad del pan para consumo

Tabla 8*Estadístico microbiológico*

Características	Valor p tratamiento/ Valor p bloque	Decisión tratamiento/bloque	Tratamiento/bloque
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,00/0,00	Al menos un promedio difiere en el tratamiento y en el bloque	TS3/Día 8
<i>Aerobios mesófilos</i>	0,00/0,00	Al menos un promedio difiere en el tratamiento y en el bloque	TS3/Día 8
<i>E. Coli/ Coliformes</i>	0,00/0,00	Al menos un promedio difiere en el tratamiento y en el bloque	TS3/Día 8
<i>Mohos y levaduras</i>	0,00/0,00	Al menos un promedio difiere en el tratamiento y en el bloque	TS3/Día 8

Región de rechazo

Cuando los valores de probabilidad fueron menores o iguales al nivel de significancia ($valor\ p \leq \alpha$) se rechazó la hipótesis nula y se eligió la hipótesis alternativa tanto para el tratamiento como para el bloque, a partir de ello se seleccionó el tratamiento que minimiza la presencia de bacterias sobre todo las relacionadas con Mohos y Levaduras con ayuda del estadístico de Tukey al 95% de confianza.

Decisión

Se hallaron diferencias significativas tanto en el tratamiento y en el bloque de todas las bacterias, con relación al tratamiento y bloque que minimizaron la presencia de estas se identificó al TS3 durante 15 días de observación en el laboratorio.

Tanto el TC como el TC2, junto con los tratamientos que se les añadió el suero fermentado TS1, TS2 y TS3 con la cepa *L. plantarum*, demostraron la ausencia de los microorganismos analizados el día 1 debido a la alta temperatura a la que fue sometido el producto (200 °C) y al tiempo de horneado (35 min). Sin embargo, en el día 8, algunos tratamientos, como el TC, mostraron valores superiores al límite permitido de mohos y levaduras (10 UFC/g), donde registró un valor de 17 UFC/g. De manera similar, el TC2 presentó un valor aproximado de 11 UFC/g, superando el límite establecido según indica Rivas (2021), el tratamiento TS1 reportó un valor menor al rango permitido y el TS2 y TS3 indicaron ausencia de mohos y levaduras. De igual manera, los otros microorganismos, como mesófilos aerobios, *Staphylococcus aureus* y coliformes totales, se encontraron dentro del límite establecido por la Norma Oficial Mexicana NOM 247 SSA1 (2008). Finalmente, el día 15, en lo que concierne a mohos y levaduras, el TC presentó un valor aproximado de 243 UFC/g, mientras que el TC2 arrojó un valor de 240 UFC/g. El TS1

presentó un valor de 210 UFC/g, y el TS2 disminuyó notablemente la cantidad a un valor aproximado de 12 UFC/g. Únicamente el TS3 registró un valor por debajo del límite establecido, indicando ausencia de *Staphylococcus aureus* y coliformes totales, por último, los mesófilos aerobios de cada tratamiento se encontraron dentro del rango permitido por la norma.

Con base en Izzo et al. (2020) al agregar suero fermentado a la masa de pan, se extendió la vida útil a 19 días en condiciones de contaminación natural, resultado similar con relación a este estudio que reportó una vida útil de al menos 15 días sin contaminación microbiológica, estos resultados respaldan nuestra hipótesis de incorporar suero como componente funcional y compuesto antimicrobiano natural para controlar los contaminantes fúngicos y extender la vida útil de los alimentos en la parte microbiológica.

Adicional se realizó una comparación entre un grupo de panes convencionales y los panes elaborados con el tratamiento y el bloque minimizador de bacterias para comparar propiedades como proteínas, grasas, humedad y cenizas observado en la siguiente tabla; para ello se utilizó una prueba de hipótesis unilateral de área derecha para la media con varianza desconocida.

4.3. Caracterización fisicoquímica del mejor tratamiento

Se realizó un análisis fisicoquímico del tratamiento que minimizó la cantidad de microorganismos patógenos con respecto a un pan convencional, para seleccionar el mejor tratamiento, las variables evaluadas fueron proteína, grasa, humedad y cenizas. Los resultados de estos análisis se pueden visualizar en la tabla 10 y 11.

$$H_0: \mu_{con\ suero} = \mu_{sin\ suero}$$

$$H_1: \mu_{con\ suero} > \mu_{sin\ suero}$$

μ representó el promedio de las propiedades descritas en el cuadro de estadísticos

Tabla 9

Estadísticos del mejor tratamiento y pan convencional

Característica	Prueba	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Proteína (%)	Con suero	3	12,6033	,48583	,28050
	Sin suero	3	8,4600	,35384	,20429
Grasa (%)	Con suero	3	11,9662	1,41965	,81964
	Sin suero	3	10,9103	,18398	,10622
Humedad (%)	Con suero	3	29,4033	0,85243	,49215
	Sin suero	3	31,6300	1,33989	,77358
Cenizas (%)	Con suero	3	,0117	,00717	,00414
	Sin suero	3	,0091	,00600	,00347

Tabla 10*Estadísticos de grupo 2*

Características	Valor p	Decisión
Proteína (%)	0,010	Rechazar H_0
Grasas (%)	0,032	Rechazar H_0
Humedad (%)	0,021	Rechazar H_0
Cenizas (%)	0,018	Rechazar H_0

Región de rechazo

Cuando los valores de probabilidad de la prueba estadística fueron menores o iguales al nivel de significancia ($valor\ p \leq \alpha$) se rechazó la hipótesis nula y se eligió la hipótesis alternativa.

Decisión

La prueba estadística evidenció que al enriquecer el suero con *Lactobacillus plantarum* este potenció las propiedades de Proteína, Grasas, Humedad y Cenizas al ser comparado con los panes de consumo tradicional, por tanto, fue claro evidenciar que la nueva materia prima permitió la elaboración de un producto con mayor cantidad de nutrientes.

Proteína

El pan al que se le añadió suero fermentado mostró un contenido de proteínas mayor que el pan convencional, un aumento de 12,60 representa aproximadamente el 48,94 % de la cantidad inicial de 8,46. Esto pudo indicar un efecto positivo del suero fermentado en el aumento del contenido proteico del pan. Según Valerio et al. (2017) la adición de suero fermentado con *L. plantarum* al pan puede aumentar su contenido de proteínas debido a la contribución directa de las proteínas del suero, la actividad enzimática durante la fermentación y la biofortificación potencial por parte de la bacteria.

Grasa

Por otro lado, el pan con suero fermentado tiene un contenido algo mayor de grasa 11,96 en comparación con el pan convencional de 10,91, la diferencia no parece significativa, porque la grasa que tiene el suero se redujo por la filtración que tuvo anteriormente, porque no hay gran diferencia entre el pan añadido el suero fermentado con la cepa y el convencional.

Humedad

El pan con suero fermentado muestra un contenido ligeramente menor de humedad 29,40 % en comparación con el pan convencional 31,63 % esta diferencia también parece ser insignificante en términos prácticos, recordar que Gutiérrez (2020) afirmó que humedad puede afectar el crecimiento y la proliferación de microorganismos patógenos en

los alimentos, La humedad proporciona un ambiente propicio para el crecimiento microbiano, ya que muchos microorganismos requieren agua para su metabolismo y reproducción así aunque la diferencia no sea significativa, se puede concluir que la adición de la cepa no aumenta la humedad del pan. Más aún, se observa una ligera disminución, aunque sea mínima, contribuye al producto final.

Cenizas

Finalmente, el contenido de cenizas en el pan con suero fermentado es algo mayor que el convencional. Sin embargo, esta diferencia no parece ser significativa. A juicio de Poveda et al. (2013) el aporte de minerales depende del suero fermentado ya que contiene una variedad de minerales, como calcio, potasio y magnesio, que se incorporan al pan durante el proceso de fermentación.

Además, que desde el punto de vista del mismo autor sostiene que durante la fermentación con *L. plantarum*, pueden producirse enzimas que descomponen componentes orgánicos de la harina y otros ingredientes, liberando minerales que pueden contribuir al contenido de cenizas.

Finalmente, como medida de control de calidad se realizó un análisis microbiológico en el pan con 1,5 g de *L. plantarum* y el pan convencional con el objetivo de evaluar y comparar la presencia y el comportamiento de microorganismos en ambos productos donde los resultados se observan en la siguiente tabla.

Tabla 11

Análisis microbiológicos del TS3 y del PC

Resultados microbiológicos día 15		
Parámetros evaluados	Tratamientos	
	TS3	PC
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,00E±00	0,00E±00
Mesófilos aerobios	8,63E±01	3,03E±03
<i>E. Coli/ Coliformes</i>	0,00E±00	0,00E±00
Mohos y levaduras	0,00E±00	2,43E±02

Nota. TS3 representa el tratamiento con suero fermentado con 1,5 g de *L. plantarum* y PC hace referencia al pan convencional.

Se pudo observar que hubo una ausencia total en el TS3 con respecto a los microorganismos de estudio *S. aureus*, *E.coli/ Coliformes* y mohos y levaduras, en mesófilos aerobios aunque hubo presencia se encontró muy por debajo de los límites permitidos y por otro lado el PC evidenció que hubo crecimiento de mesófilos aerobios encontrándose debajo del límite establecido por la NOM 247 SSA1 (2008) que expresa un valor de 5.000 UFC/g mientras que los mohos y levaduras excedieron los límites de la norma.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

Se determinó formulaciones a base de diferentes concentraciones de suero fermentado mediante la experimentación y revisión bibliográfica lo que permitió establecer 2 tratamientos control sin el suero fermentado el TC y el TC2 y 3 tratamientos con el suero fermentado que consistió en 0,25% en el TS1, el 0,5% en el TS2 y el 0,75% en el TS3 en relación masa volumen donde la masa representó la cantidad de *L. plantarum* en 200 ml de suero pasteurizado.

Una vez determinado el mejor tratamiento que fue el TS3 se analizó las características fisicoquímicas del pan añadido el suero fermentado mediante *L. plantarum* con un pan convencional donde se evidenció un impacto significativo entre los dos tipos de pan. Los resultados determinaron que la adición de suero de queso fermentado con *L. plantarum* en la elaboración del pan dio lugar a cambios positivos en parámetros como la grasa, proteína y humedad, indicando que la utilización de este fermento ayudó a potenciar su calidad en el aspecto nutricional. Así también, se analizó las características microbiológicas de ambos tipos de pan, donde los resultados reflejaron que el pan con el suero fermentado presentó una gran ventaja en la inhibición de microorganismos que afectan a la vida útil del pan con respecto al pan convencional, especialmente con mohos y levaduras provocando la ausencia de estos en el día 15 de control.

5.2. Recomendaciones

Sería beneficioso realizar un análisis detallado de los costos asociados con la producción de pan utilizando suero fermentado con *Lactobacillus plantarum* en comparación con métodos de producción convencionales. Esto ayudaría a determinar la viabilidad económica de la implementación de esta técnica a escala comercial y permitiría identificar áreas donde se pueden optimizar los procesos para reducir costos.

Realizar estudios de análisis sensorial con paneles de consumidores para evaluar la aceptabilidad del pan elaborado con suero fermentado en términos de sabor, textura y otras características organolépticas. Este tipo de análisis proporcionaría información crucial sobre la preferencia del consumidor y ayudaría a ajustar las formulaciones para satisfacer mejor las expectativas del mercado.

BIBLIOGRAFÍA

- Benavides, M. (2019). *Aplicación de la fermentación láctica como estrategia de transformación y valorización de matrices vegetales*. <http://www.tdx.cat/?locale=Campoverde>, R. (2023). *Caracterización fisicoquímica y microbiológica de un concentrado proteico fermentado a partir del suero de quesería*. <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/11931>
- Centro de Industrias lácteas. (2019). *Lácteos | Centro de la Industria Láctea | Ecuador*. <https://www.cil-ecuador.org/>
- Contreras, L. (2021). *Elaboración de películas comestibles a partir de suero de leche fermentado por bacterias ácido lácticas*. <https://hdl.handle.net/20.500.12371/15300>
- Dagnino, J. (2014). *ANÁLISIS DE VARIANZA*.
- David, I., & Ramirez, I. (2022). *TRATAMIENTO ELECTROQUÍMICO PARA LA REMOCIÓN DE SÓLIDOS TOTALES DEL SUERO DE LECHE*.
- De la Cruz, S. (2018). *INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTLA GUTIÉRREZ DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y BIOQUÍMICA REPORTE TÉCNICO DE RESIDENCIA PROFESIONAL*.
- Dinev, T., Beev, G., Tzanova, M., Denev, S., Dermendzhieva, D., & Stoyanova, & A. (2018). ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF LACTOBACILLUS PLANTARUM AGAINST PATHOGENIC AND FOOD SPOILAGE MICROORGANISMS: A REVIEW. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 21(3), 253–268. <https://doi.org/10.15547/bjvm.1084>
- Dopazo, V., Illueca, F., Luz, C., Musto, L., Moreno, A., Calpe, J., & Meca, G. (2023). Evaluation of shelf life and technological properties of bread elaborated with lactic acid bacteria fermented whey as a bio-preservation ingredient. *LWT*, 174, 114427. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2023.114427>
- Espinoza, P. (2022). *Uso de bioconservación y recubrimientos comestibles en la elaboración de pan artesanal*. <https://ri-ng.uaq.mx/handle/123456789/8772>
- Estofanero, S. (2016). Evaluación de vida útil del pan tipo hamburguesa elaborado con fibras alimentarias. *Universidad Peruana Unión*. <https://repositorio.upeu.edu.pe/handle/20.500.12840/652>
- Fajardo-Argoti, C., Jurado-Gámez, H., Parra-Suescún, J., Fajardo-Argoti, C., Jurado-Gámez, H., & Parra-Suescún, J. (2021). Viabilidad de *Lactobacillus plantarum* microencapsulado bajo condiciones gastrointestinales simuladas e inhibición sobre *Escherichia coli* O157:H7. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 24(1). <https://doi.org/10.31910/RUDCA.V24.N1.2021.1733>
- Fernández Fernández, E., Alfredo Martínez Hernández, J., Martínez Suárez, V., Manuel Moreno Villares, J., Rodolfo Collado Yurrita, L., Hernández Cabria, M., & Javier Morán Rey, F. (2015). Documento de Consenso: importancia nutricional y metabólica de la leche. *Nutr Hosp*, 31(1), 92–101. <https://doi.org/10.3305/nh.2015.31.1.8253>

- Garcia, M. V., Bernardi, A. O., & Copetti, M. V. (2019). The fungal problem in bread production: insights of causes, consequences, and control methods. *Current Opinion in Food Science*, 29, 1–6. <https://doi.org/10.1016/J.COFS.2019.06.010>
- Geomara, G., Marzano, G., Alfonso Suárez, M., Moncayo, M. P., Lucía Toledo, M., Almeida, M. V., Gissela, G., & Barriga, G. (2022). *Evaluación de la aceptabilidad de un pan de harina de quinua libre de gluten con adición de proteína de suero de leche*. <http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/14363>
- Gereková, P., Petruláková, Z., & Šturdík, E. (2011). Importance of lactobacilli for bread-making industry. *Acta Chimica Slovaca*, 4(2), 118–135.
- Gloria Ordoñez, R. O., Bravo, O., Javier, R., & Anchundia, O. (2010). *ESCUELA SUPERIOR POLITÈCNICA DEL LITORAL TESIS DE GRADO*.
- Gutierrez, C. (2020). *GUÍA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA VIDA ÚTIL DE LOS ALIMENTOS*.
- Hernández, L. (2020). Estudio de la vida útil de una masa de maíz amarillo para la elaboración de empanadas en la Empresa Maquiempañadas. In *Universidad Católica de Manizales*. <https://repositorio.ucm.edu.co/jspui/handle/10839/2902>
- Herrera, Y. (2021). Estudio de la diversidad de bacterias lácticas nativas con actividad antimicrobiana, proteolítica y aminogénica aisladas de salchichas huachanas de elaboración artesanal. *Universidad Nacional Mayor de San Marcos*. <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/16010>
- Ibrahim Abdulgawad, I. A. (2016). Fermentation of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Wastes using *Lactobacillus plantarum* for the Production of Lactic Acid and Fertilizer. *International Journal of Waste Resources*, 06(04). <https://doi.org/10.4172/2252-5211.1000253>
- INEC. (2023). *home – Instituto Nacional de Estadística y Censos*. <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/institucional/home/>
- Izzo, L., Luz, C., Ritieni, A., Mañes, J., & Meca, G. (2020). Whey fermented by using *Lactobacillus plantarum* strains: A promising approach to increase the shelf life of pita bread. *Journal of Dairy Science*, 103(7), 5906–5915. <https://doi.org/10.3168/JDS.2019-17547>
- Jaramillo, J. (2020). *Protocolo para la vida útil del pan sin relleno*. <https://bibliotecadigital.udea.edu.co/handle/10495/18769>
- Julián Pérez y Ana Gardey. (2023). *Queso - Qué es, orígenes, definición y concepto*. 4 de Abril. <https://definicion.de/queso/>
- Luz, C., Quiles, J. M., Romano, R., Blaiotta, G., Rodríguez, L., & Meca, G. (2021). Application of whey of Mozzarella di Bufala Campana fermented by lactic acid bacteria as a bread biopreservative agent. *International Journal of Food Science & Technology*, 56(9), 4585–4593. <https://doi.org/10.1111/IJFS.15092>
- Mañuico, M. (2023). *FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA IN VITRO DEL EXTRACTO “SAETILLA” SOBRE Candida albicans*. <https://orcid.org/0000-0001-9953-0957>

- Ministerio de Salud Pública. (2023). *Datos Abiertos – Ministerio de Salud Pública*.
<https://www.salud.gob.ec/datos-abiertos/>
- NOM 247 SSA1. (2008). *DOF - Diario Oficial de la Federación*.
https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5100356&fecha=27/07/2009#gsc.tab=0
- NTE INEN 2495. (2014). *NTE INEN 2945 NORMA TÉCNICA ECUATORIANA PAN. REQUISITOS 2014-XX. Quito Ecuador BREAD. REQUIREMENTS - PDF Descargar libre*. <https://docplayer.es/72215729-Nte-inen-2945-norma-tecnica-ecuatoriana-pan-requisitos-2014-xx-quito-ecuador-bread-requirements.html>
- NTE INEN 2594. (2011). *NTE INEN 2594: Suero de leche líquido. Requisitos*.
<https://studylib.es/doc/6353148/nte-inen-2594--suero-de-leche-l%C3%ADquido.-requisitos>
- Pino, S. P. (2020). *Calidad Microbiológica del Pan: Bacillus cereus*.
- Poveda, E., Diriger, L., & Elpidia Poveda, D. (2013). Suero lácteo, generalidades y potencial uso como fuente de calcio de alta biodisponibilidad Whey, generalities and potential use as source of calcium from high bioavailability. *Rev Chil Nutr*, 40.
- Prolactea. (2023). *SUERO DE LECHE – Prolactea*. Suero de Leche.
<https://prolactea.es/suero-de-leche/>
- Rivas, C. (2021). *UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI FACULTAD DE INDUSTRIAS AGROPECUARIAS Y CIENCIAS AMBIENTALES CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS*.
- Rodríguez-Salinas, P. A., Urías-Orona, V., Muy-Rangel, D., Basilio-Heredia, J., Suarez-Jacobo, A., Báez-González, J. G., Zavala-García, F., Niño-Medina, G., Rodríguez-Salinas, P. A., Urías-Orona, V., Muy-Rangel, D., Basilio-Heredia, J., Suarez-Jacobo, A., Báez-González, J. G., Zavala-García, F., & Niño-Medina, G. (2021). Efecto de termosonicación y pasteurización sobre propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y nutraceuticas en bebidas de maíz. *Biotecnia*, 23(1), 92–101.
<https://doi.org/10.18633/BIOTECNIA.V23I1.1204>
- Salazar, J. (2019). *¿Qué es el método de Tukey para comparaciones múltiples?*
<https://es.linkedin.com/pulse/qu%C3%A9-es-el-m%C3%A9todo-de-tukey-para-comparaciones-salazar-jaime>
- Sánchez, E. (2016). *Capítulo ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA*.
<https://doi.org/10.3926/oms.334>
- Seddik, H. A., Bendali, F., Gancel, F., Fliss, I., Spano, G., & Drider, D. (2017a). Lactobacillus plantarum and Its Probiotic and Food Potentialities. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 9(2), 111–122. <https://doi.org/10.1007/S12602-017-9264-Z/METRICS>
- Seddik, H. A., Bendali, F., Gancel, F., Fliss, I., Spano, G., & Drider, D. (2017b). Lactobacillus plantarum and Its Probiotic and Food Potentialities. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 9(2), 111–122. <https://doi.org/10.1007/S12602-017-9264-Z/METRICS>
- Tejero, F. (2019). *Francisco Tejero - Asesoría Técnica en Panificación - Moho: prevención en el pan de molde envasado*. Asesoría Técnica En Panificación - Moho: Prevención En El Pan de Molde Envasado.

[http://www.franciscotejero.com/tecnicas/moho-prevencion-en-el-pan-de-molde-
envasado/](http://www.franciscotejero.com/tecnicas/moho-prevencion-en-el-pan-de-molde-
envasado/)

Thermo Scientific. (2024). *Thermo Scientific™ Agar MRS (ISO) (DeMan, Rogosa y Sharpe) (deshidratado): Inicio* | Fisher Scientific. Thermo Scientific. <https://www.fishersci.es/shop/products/mrs-iso-agar-deman-rogo-sa-sharpe-dehydrated-2/p-7079182>

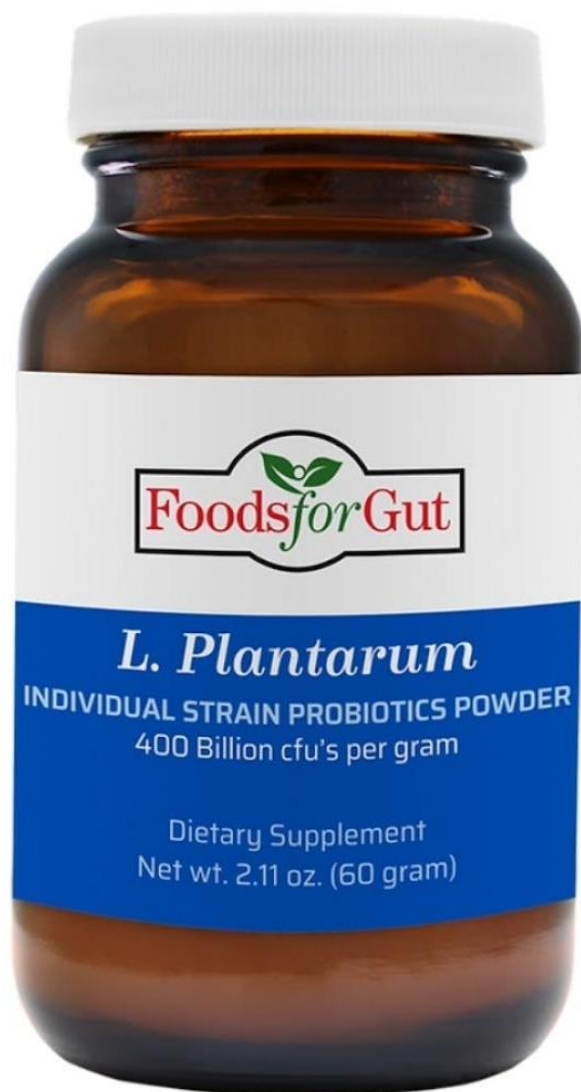
Valerio, F., Conte, A., Di Biase, M., Lattanzio, V. M. T., Lonigro, S. L., Padalino, L., Pontonio, E., & Lavermicocca, P. (2017). Formulation of yeast-leavened bread with reduced salt content by using a *Lactobacillus plantarum* fermentation product. *Food Chemistry*, 221, 582–589. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2016.11.135>

Zapaśnik, A., Sokołowska, B., & Bryła, M. (2022). Role of Lactic Acid Bacteria in Food Preservation and Safety. *Foods* 2022, Vol. 11, Page 1283, 11(9), 1283. <https://doi.org/10.3390/FOODS11091283>

Zotta, T., Solieri, L., Iacumin, L., Picozzi, C., & Gullo, M. (2020). Valorization of cheese whey using microbial fermentations. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2020 104:7, 104(7), 2749–2764. <https://doi.org/10.1007/S00253-020-10408-2>

ANEXOS

Anexo 01. Probiótico de *Lactobacillus plantarum* en polvo



Anexo 02. Microfast Meizheng proporcionado por la empresa CAPILAB

MicroFast[®] INDICADORES

CAPILAB
SOLUCIONES DE CALIDAD

MicroFast[®] Aerobic Count Plate (AC)
PERFORMANCE TESTED
AOAC
RESEARCH INSTITUTE
LICENSE NUMBER 13210

MicroFast[®] Yeast & Mold (YM) Count Plate
PERFORMANCE TESTED
AOAC
RESEARCH INSTITUTE
LICENSE NUMBER 12210

MicroFast[®] Staphylococcus aureus (SA) Count Plate
PERFORMANCE TESTED
AOAC
RESEARCH INSTITUTE
LICENSE NUMBER 12210

MicroFast[®] Coliform & Count Plate (CC)
PERFORMANCE TESTED
AOAC
RESEARCH INSTITUTE
LICENSE NUMBER 10210

MicroFast[®] Enterobacteriaceae (EB) Count Plate
PERFORMANCE TESTED
AOAC
RESEARCH INSTITUTE
LICENSE NUMBER 11210

MicroFast[®] Coliform & E. coli (EC) Count Plate
PERFORMANCE TESTED
AOAC
RESEARCH INSTITUTE
LICENSE NUMBER 10210

MicroFast[®] Bacillus cereus (BC) Count Plate

MicroFast[®] Staphylococcus aureus (SA) Confirmation Plate

MicroFast[®] products are certified by AOAC Research Institute. The image shows eight different count plates with various colored backgrounds and patterns of colonies. Below the plates are several AOAC certification certificates for different MicroFast products.

CAPILAB S.A.S
Km 3.5 Vía Durán-Tambo
T +593 984815306 || +593 983058259 || +593 990993368
Correo: ventascapilab1@gmail.com || ventascapilab02@gmail.com || ventascapilab01@gmail.com

MEIZHENG
a PerkinElmer company

Anexo 03. Tabla de análisis fisicoquímicos del pan

	Tratamiento maximizador			Pan común		
	Repeticiones					
	R1	R2	R3	R1	R2	R3
Proteína (%)	13,0375	12,6875	12,075	8,1375	8,8375	8,4
Grasa (%)	10,32701	12,76871	12,80277	10,9601	11,06427	10,70656
Humedad (%)	30,06	28,44	29,71	32,84	31,86	30,19
Cenizas (%)	0,0088	0,0199	0,0065	0,016	0,0056	0,0056

Anexo 04. Evidencias fotográficas del estudio



Ilustración 1 Pan con suero fermentado



Ilustración 2 Pan convencional



Ilustración 3 Análisis microbiológico del suero



Ilustración 4 Conteo de *L. plantarum*



Ilustración 5 *L. plantarum*



Ilustración 6 Diluciones seriadas