



# **UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE**

**FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS  
AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES**

**CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

**“PRODUCCIÓN DE UNA BEBIDA FUNCIONAL A PARTIR  
DE MEZCLAS DE SUERO DE LECHE DE CABRA Y JUGOS  
DE FRUTOS ANDINOS, FERMENTADAS CON GRÁNULOS  
DE KÉFIR”**

**TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERA  
AGROINDUSTRIAL**

**Autor: NASTAR MARCILLO DIANA ALEXANDRA**

**Director: Ing. José Manuel País Chanfrau, PhD.**

**Ibarra-Ecuador**

**2022**



# UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

## BIBLIOTECA UNIVERSITARIA

### AUTORIZACIÓN DE USO Y PUBLICACIÓN A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

#### 1. IDENTIFICACIÓN DE LA OBRA

En cumplimiento del Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, hago la entrega del presente trabajo a la Universidad Técnica del Norte de manera digital para que sea publicado en el Repositorio Digital Institucional, para lo cual pongo a disposición la siguiente información:

DATOS DE CONTACTO	
<b>CÉDULA DE IDENTIDAD:</b>	040199163-3
<b>NOMBRES Y APELLIDOS:</b>	Nastar Marcillo Diana Alexandra
<b>DIRECCIÓN:</b>	San Andrés-San Gabriel
<b>E-MAIL:</b>	danastarm@utn.edu.ec
<b>TELEFONO:</b>	0960590517

DATOS DE LA OBRA	
<b>TÍTULO:</b>	“Producción de una bebida funcional a partir de mezclas de suero de leche de cabra y jugos de frutos andinos, fermentadas con gránulos de kéfir”
<b>AUTOR:</b>	Nastar Marcillo Diana Alexandra
<b>FECHA:</b>	22/06/2022
SOLO PARA TRABAJO DE TITULACIÓN	
<b>PROGRAMA:</b>	<input checked="" type="checkbox"/> PREGRADO <input type="checkbox"/> POSGRADO
<b>TÍTULO POR EL QUE OPTA:</b>	Ingeniera Agroindustrial
<b>DIRECTOR:</b>	Ing. José Manuel País Chanfrau, PhD.

## **2. CONSTANCIAS**

El autor manifiesta que la obra objeto de la presente autorización es original y se la desarrolló, sin violar derechos de autor de terceros, por lo tanto, la obra es original y que es el titular de los derechos patrimoniales, por lo que asume la responsabilidad sobre el contenido de esta y saldrá en defensa de la Universidad en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, a los 22 días del mes de junio del 2022

**AUTOR:**

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Nastar Marcillo Diana Alexandra', enclosed within a large, stylized circular flourish.

Nastar Marcillo Diana Alexandra

**CC:** 040199163-3

## **CERTIFICACIÓN**

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por la señorita Diana Alexandra Nastar Marcillo, con cédula de ciudadanía 0401991633, bajo mi supervisión.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Jm País Chanfrau', is positioned above the typed name.

Ing. José Manuel País Chanfrau, PhD.

**DIRECTOR DE TESIS**

## **DEDICATORIA**

*Dedico este trabajo en primer instancia a Dios que ha guiado mi camino en todo momento, con todo mi corazón a mis padres Doris Marcillo y Felipe Nastar quienes con su amor, ejemplo, sacrificio y apoyo incondicional permitieron que logre culminar mi carrera profesional, además de brindarme valores y confianza para seguir adelante. Espero contar siempre con su valioso apoyo.*

*Diana N.*

## **AGRADECIMIENTO**

*Al finalizar una etapa maravillosa de mi vida quiero extender un profundo agradecimiento, a quienes hicieron posible el cumplimiento de este sueño tan anhelado. Esta mención en especial a Dios, por brindarme la vida, la fortaleza en los momentos de dificultad y por todas sus bendiciones.*

*Mi total agradecimiento a la Universidad Técnica del Norte y cada uno de los docentes de la Carrera de Agroindustrias quienes, con la enseñanza de su valioso conocimiento y experiencias, permitieron formarme como profesional.*

*A mis padres: Doris y Felipe, por ser el mejor ejemplo de lucha y constancia, a la vez los promotores de mis sueños para cumplir cada una de mis metas logradas.*

*A ellos mi eterno amor y gratitud.*

*A mi hermana Katherine, por ser mi compañera de vida, por brindarme su amistad y ser un gran ejemplo de persona.*

*A David A., por brindarme su amor, comprensión y apoyo incondicional en todo el tiempo compartido para seguir logrando juntos nuestros sueños.*

*De manera muy especial quiero expresar un sincero agradecimiento a mi director de tesis Dr. José Manuel País, principal colaborador durante todo este proceso, por todo su tiempo, dirección y compromiso, de igual manera a mis asesores*

*Bioq. Valeria Olmedo e Ing. Nicolás Pinto.*

*Finalmente agradezco a todos los amigos y compañeros quienes formaron parte de esta maravillosa etapa.*

*Diana N.*

## ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS .....	I
ÍNDICE DE FIGURAS.....	II
ÍNDICE DE ANEXOS.....	II
RESUMEN.....	III
ABSTRACT .....	IV
<b>CAPÍTULO I</b> .....	1
INTRODUCCIÓN .....	1
1.1    PROBLEMA .....	1
1.2    JUSTIFICACIÓN.....	2
1.3    OBJETIVOS.....	4
1.3.1    Objetivo General .....	4
1.3.2    Objetivos Específicos .....	4
1.4    HIPÓTESIS.....	4
1.4.1    Hipótesis Nula .....	4
1.4.2    Hipótesis Alternativa .....	4
<b>CAPÍTULO II</b> .....	5
MARCO TEÓRICO.....	5
2.1.    SUERO DE LECHE.....	5
2.1.1.    Tipos de Suero de Leche.....	6
2.1.2.    Usos del Suero de Leche.....	7
2.2.    TOMATE DE ÁRBOL (Cyphomandra betacea) .....	8
2.2.1.    Morfología y Taxonomía .....	8
2.2.2.    Estado de madurez y características del tomate de árbol.....	9
2.2.3.    Composición e Información Nutricional .....	10
2.2.4.    Usos e Importancia Económica.....	11
2.2.5.    Zonas de Producción del Tomate de Árbol.....	11
2.3.    FRESA (Fragraria sp.).....	12

2.3.1.	Morfología y Taxonomía .....	12
2.3.2.	Estado de Madurez y Características de la fresa .....	13
2.3.3.	Composición e Información Nutricional .....	14
2.3.4.	Usos e Importancia Económica.....	15
2.3.5.	Zonas de Producción de Fresa.....	15
2.4.	FERMENTACIÓN .....	16
2.4.1.	Usos de la Fermentación .....	17
2.4.2.	Tipos de Fermentaciones .....	18
2.5.	FERMENTACIONES ÁCIDO-LÁCTICAS .....	19
2.5.1.	Bacterias Ácido Lácticas.....	21
2.5.2.	Clasificación de Bacterias Ácido Lácticas.....	22
2.6.	KÉFIR.....	23
2.6.1.	Kéfir de Leche .....	24
2.6.2.	Kéfir de Agua.....	25
2.6.3.	Kefirán .....	28
2.6.4.	Composición Química y Nutricional del Kéfir .....	29
2.6.5.	Beneficios del Kéfir.....	30
2.7.	ALIMENTOS FUNCIONALES .....	31
2.7.1.	Probióticos.....	31
2.7.2.	Prebióticos.....	32
2.7.3.	Mecanismos de Acción de los Probióticos y Prebióticos .....	33
<b>CAPÍTULO III .....</b>		<b>34</b>
<b>METODOLOGÍA.....</b>		<b>34</b>
3.1	CARACTERIZACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO .....	34
3.2	MATERIALES Y EQUIPOS .....	34
3.2.1	Materia Prima e Insumos .....	36
3.3	METODOLOGÍA.....	36
3.3.1	Determinación de la Proporción Óptima de Suero de Leche de Cabra y Jugo de Frutos Andinos.....	36
3.3.2	Factores en Estudio.....	37

3.3.3	Tratamientos.....	37
3.3.4	Diseño Experimental.....	38
3.3.5	Características de la Unidad Experimental.....	38
3.4	VARIABLES A EVALUAR.....	38
3.4.1	Variables Cuantitativas.....	38
3.4.1.1	Determinación de pH.....	39
3.4.1.2	Determinación de °Brix.....	39
3.4.1.3	Determinación de ácido láctico.....	39
3.4.1.4	Determinación de grado alcohólico.....	39
3.4.1.5	Determinación de viscosidad.....	39
3.4.1.6	Determinación de grasa.....	39
3.4.1.7	Determinación de proteína.....	40
3.4.1.8	Determinación lactosa.....	40
3.4.1.9	Cuantificación de bacterias ácido lácticas y levaduras.....	40
3.4.1.10	Evaluación de la Capacidad Antioxidante.....	40
3.4.2	Variables Cualitativas.....	40
3.5	MÉTODO DE PROCESAMIENTO.....	41
3.5.1	Diagrama de Flujo y Descripción de Procesos.....	41
3.5.2	Detalle del Proceso Obtención de Suero de Leche.....	42
3.5.3	Detalle del Proceso Obtención de Zumo de Frutas.....	42
3.5.4	Detalle del Proceso de Obtención de Bebida Fermentada.....	43
<b>CAPITULO IV.....</b>		<b>44</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>		<b>44</b>
4.1.	<b>DETERMINACIÓN DE LA PROPORCIÓN ÓPTIMA DE SUERO DE LECHE DE CABRA Y JUGO DE FRUTOS ANDINOS.....</b>	<b>44</b>
4.1.1.	Caracterización de Materia Prima.....	45
4.1.2.	Evaluación del tiempo de fermentación para determinar la productividad de las mezclas.....	49
4.2.	<b>DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS ÓPTIMOS PARA LA OBTENCIÓN DEL CULTIVO LÁCTICO.....</b>	<b>50</b>

4.2.1.	Análisis de Varianza (ANOVA) de las Variables de Respuesta para la Optimización de las Mezclas en la Bebida.....	50
4.2.2.	Análisis Gráfico de las Variables Respuesta en tres Dimensiones..	53
4.2.3.	Representación Gráfica de los residuos en las variables respuesta para los modelos propuestos.....	57
4.2.4.	Optimización y Validación del Modelo Sugerido para la Obtención de Parámetros Óptimos (Mezclas de Jugos y Tipo de Inóculo) Mediante Cuantificación de BAL, Levaduras y Deseabilidad. ....	58
4.3.	EVALUACIÓN DE LAS CUALIDADES FISICOQUÍMICAS, NUTRICIONALES Y ORGANOLÉPTICAS DE LAS BEBIDAS ÓPTIMAS.	61
4.3.1.	Análisis de Capacidad Antioxidante.....	65
4.3.2.	Análisis Sensorial de la Mejor Bebida Obtenida.....	66
<b>CAPITULO V</b>	.....	68
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	.....	68
5.1	CONCLUSIONES.....	68
5.2	RECOMENDACIONES.....	69
BIBLIOGRAFÍA	.....	70
ANEXOS.....	.....	78

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b>	Análisis Comparativo de Leche de Cabra, SL de Cabra Y SL de Vaca.....	5
<b>Tabla 2</b>	Comparación Nutricional Del Suero Dulce Y Ácido.....	6
<b>Tabla 3</b>	Usos del Lactosuero.....	7
<b>Tabla 4</b>	Taxonomía del Tomate Árbol .....	9
<b>Tabla 5</b>	Composición Nutricional De Tomate De Árbol.....	10
<b>Tabla 6</b>	Taxonomía de la Fresa.....	13
<b>Tabla 7</b>	Valores Nutricionales de la Fresa.....	14
<b>Tabla 8</b>	Principales Consecuencias de Desarrollo de las BAL en la Leche de Cabra. ....	19
<b>Tabla 9</b>	Clasificación BAL según la Temperatura.....	22
<b>Tabla 10</b>	Principales Grupos de Bacterias Presentes en el Kéfir.....	27
<b>Tabla 11</b>	Principales Levaduras encontrados en los Gránulos de Kéfir.....	28
<b>Tabla 12</b>	Composición Química y Nutricional del Kéfir.....	29
<b>Tabla 13</b>	Especies de Microorganismos Usados como Probióticos en Humanos.....	32
<b>Tabla 14</b>	Ubicación del Área de Estudios.....	34
<b>Tabla 15</b>	Materia Prima, Equipos e Instrumentos.....	36
<b>Tabla 16</b>	FACTOR Mix 1 (Porcentaje de mezcla de suero de cabra(A) y jugo de frutos andinos(B)), FACTOR Mix 2 (Porcentajes de Kéfir de leche(C) y kéfir de agua(D)). ....	37
<b>Tabla 17</b>	Descripción de los tratamientos para la obtención de una bebida funcional.....	37
<b>Tabla 18</b>	Resultados reales obtenidos de los tratamientos propuestos.....	44
<b>Tabla 19</b>	Análisis Físico-químicos de Leche y Suero de Cabra.....	45
<b>Tabla 20</b>	Caracterización de la mezcla 50:50 de jugo de fresa y jugo de tomate.....	46
<b>Tabla 21</b>	Análisis de varianza (ANOVA) para los modelos de BAL, Levaduras y Aceptabilidad.....	51
<b>Tabla 22</b>	Coefficientes de regresión, intervalos de confianza ( $p < 0.05$ ) y error estándar.....	56
<b>Tabla 23</b>	Mezclas óptimas para maximización de BAL y levaduras sugeridos por el modelo.....	58
<b>Tabla 24</b>	Valores óptimos predichos y reales para maximización de las variables.....	59
<b>Tabla 25</b>	Resultados de los análisis físicoquímicos, nutricionales y organolépticos de los 3 productos finales óptimos.....	61

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> Estado de Madurez del Tomate de Árbol .....	9
<b>Figura 2</b> Índice de Madurez de la fresa .....	13
<b>Figura 3</b> Gránulos de Kéfir de Leche .....	24
<b>Figura 4</b> Gránulos de kéfir de agua. ....	25
<b>Figura 5</b> Diagrama de Flujo de la Fase Experimental. ....	41
<b>Figura 6</b> Tiempos mínimos de fermentación obtenidos, mediante el análisis de los puntos en la fase de crecimiento exponencial. ....	49
<b>Figura 7</b> Proceso para encontrar la optimización de las variables respuesta. ....	50
<b>Figura 8</b> Gráficos de superficie de respuesta con las variables combinadas Suero de leche de cabra(A), Jugo(B), Kéfir de leche(C), kéfir de agua(D), para optimización. ....	54
<b>Figura 9</b> Valores predichos vs Valores reales, Residuales vs Corrida de BAL(UFC/ml), Levaduras((Y)UFC/ml) y Aceptabilidad. ....	57
<b>Figura 10</b> Representación de los Modelos de Validación para las tres bebidas óptimas puestas a experimentación. ....	60
<b>Figura 13</b> Diferencias entre tratamientos para la variable Capacidad Antioxidante .....	65
<b>Figura 11</b> Valores obtenidos en el análisis sensorial (Olor, Color, Sabor, Textura y Aceptabilidad General) de la bebida funcional considerada óptima. ....	66
<b>Figura 12</b> Representación Gráfica Distribuida del perfil Sensorial. ....	67

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> Fotografías del proceso de extracción de suero lácteo de cabra. ....	78
<b>Anexo 3.</b> Fotografías del proceso de obtención de jugo de tomate. ....	79
<b>Anexo 4.</b> Fotografías proceso de obtención de jugo de fresa. ....	79
<b>Anexo 5.</b> Fotografías del proceso de elaboración de bebida fermentada. ....	80
<b>Anexo 6.</b> Fotografías análisis realizados. ....	81
<b>Anexo 7.</b> Resultados fisicoquímicos de la bebida optima 1. ....	83
<b>Anexo 8.</b> Resultados fisicoquímicos de la bebida optima 2. ....	85
<b>Anexo 9.</b> Resultados fisicoquímicos de la bebida optima 3. ....	87
<b>Anexo 10.</b> Gráficas de los tiempos de fermentación en cada tratamiento. ....	89
<b>Anexo 11.</b> Ficha de degustación general para los 23 tratamientos. ....	92
<b>Anexo 12.</b> Ficha de degustación específica para la bebida óptima. ....	93

## RESUMEN

El lactosuero de cabra es un subproducto de la industria láctea obtenido de la fabricación de queso, y éste contiene gran parte de los nutrientes de la leche de cabra. Por otro lado, los frutos andinos como el tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*) y la fresa (*Fragaria* sp.) entre cuyos compuestos activos reportados se encuentran vitaminas (A, C y E) y compuestos antioxidantes. Por lo tanto, las materias primas mencionadas serían aptas para elaborar productos de alto valor nutraceútico. El objetivo principal de la investigación es la producción de una bebida funcional con propiedades probióticas a partir de lactosuero de cabra, mezclado con jugos de frutos andinos y su posterior fermentación con gránulos de kéfir. Se utilizó la metodología de superficie de respuesta para encontrar las mezclas más convenientes de lactosuero de cabra y una mezcla 50:50 de jugo de tomate de árbol y fresa, fermentados por 48 horas a  $19.45 \pm 0.82^{\circ}\text{C}$ , con el fin de maximizar la población de bacterias ácido-lácticas (BAL), y levaduras; así como, la aceptabilidad obtenida de un panel de 15 catadores semi-entrenados que degustaron el producto final. Luego de corroborar a través de un análisis de varianza, la validez de los modelos obtenidos se determinó que en las mezclas: óptimo 1, óptimo 2 y óptimo 3 donde se obtuvo  $5.09, 13.1, 3.97 \cdot 10^8$  UFC/ml BAL,  $9.79, 4.56, 6.52 \cdot 10^8$  UFC/ml levaduras, y 5.85, 6.62, 6.35 de aceptabilidad, respectivamente. Los valores obtenidos cumplen con los valores sugeridos por las normas, para ser catalogados como bebidas probióticas ( $>10^7$  UFC/ml BAL y  $\geq 10^4$  UFC/ml levaduras, según la norma INEN 2395). La validación de los óptimos obtenidos se realizó mediante 5 repeticiones y se confirmó que no existe diferencia significativa con los valores sugeridos por los modelos ( $p \leq 0.05$ ), confirmando así su validez. Posteriormente, se evaluaron las características fisicoquímicas y nutricionales (grasa, lactosa, acidez, proteína, viscosidad, grado alcohólico, pH, °Brix y capacidad antioxidante) de las bebidas obtenidas bajo las condiciones óptimas, las cuales se encuentran dentro de lo establecido en las normativas NTE INEN y CODEX. Adicionalmente, a la bebida óptima 2 se le realizó una evaluación sensorial específica, obteniendo una bebida con una aceptación general de 6/7 con predominante textura ligera, olor afrutado, sabor ácido, un color naranja y textura homogénea.

## ABSTRACT

Goat whey is a product of the dairy industry obtained from the manufacture of cheese, and it contains many of the nutrients of goat's milk. On the other hand, andean fruits such as tree tomato (*Cyphomandra betacea*) and strawberry (*Fragaria* sp.) whose reported active compounds include vitamins (A, C and E) and antioxidant compounds. Therefore, the raw materials would be suitable for producing products with a high nutraceutical value. The main objective of the research is the production of a functional drink with probiotic properties from goat whey, mixed with Andean fruit juices and its subsequent fermentation with kefir granules. The response surface methodology was used to find the most convenient mixtures of goat whey and a 50:50 mixture of tree tomato and strawberry juice, fermented for 48 hours at  $19.45 \pm 0.82^{\circ}\text{C}$ , to maximize the yield population of lactic acid bacteria (BAL), and yeasts; as well as the acceptability obtained from a panel of 15 semi-trained tasters who tasted the final product. After corroborating through an analysis of variance, the validity of the obtained models was determined that in the mixtures: optimal 1, optimal 2 and optimal 3 where 5.09, 13.1, 3.97  $10^8$  CFU/ml BAL, 9.79, 4.56, were obtained. 6.52  $10^8$  CFU/ml yeasts, and 5.85, 6.62, 6.35 acceptability, respectively. The values obtained comply with the values suggested by the standards, to be classified as probiotic beverages ( $>10^7$  CFU/ml BAL and  $\geq 10^4$  CFU/ml yeast, according to the INEN 2395 standard). The validation of the obtained optima was carried out through 5 repetitions, and it was confirmed that there is no significant difference with the values suggested by the models ( $p \leq 0.05$ ), thus confirming its validity. Subsequently, the physicochemical and nutritional characteristics (fat, lactose, acidity, protein, viscosity, alcoholic strength, pH, °Brix and antioxidant capacity) of the beverages obtained under optimal conditions were evaluated, which are within what is established in the NTE INEN and CODEX regulations. Additionally, the optimal drink 2 underwent a specific sensory evaluation, obtaining a drink with a general acceptance of 6/7 with a predominant light texture, fruity smell, acid taste, orange color and homogeneous texture.

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

### 1.1 PROBLEMA

En el Ecuador la industria de la elaboración de los derivados de leche de cabra y en especial de queso de cabra, se caracteriza por la presencia de varias marcas en el mercado, las más reconocidas son: Floralp, Dulacs, Gonzales, Mondel, La Pampilla y Bolívar. La empresa líder en el mercado en cuanto a los derivados lácteos de caprino es Mondel, por los puntos de venta que cuenta para su distribución (Carvajal, 2020). Entendiendo la afirmación de Carvajal, se puede deducir que es muy reducida la producción y comercialización de subproductos de leche de cabra.

El suero de quesería presenta componentes de enorme interés nutritivo entre el 50-55% de todos los nutrientes de la leche, en el Ecuador la totalidad de la producción de leche de cabra se transforman en diferentes derivados como el queso y en su gran mayoría en establecimientos o emprendimientos pequeños, por lo tanto no disponen de sistemas de tratamiento ni de otras alternativas que permitan dar una correcta salida y aprovechamiento al lactosuero según Bedoya, (2016).

Adicionalmente, debido a que el volumen de leche de cabra es relativamente menor a la leche de vaca, no existen suficientes investigaciones de este suero que sustenten el conocimiento sobre sus propiedades y posibles usos en la industria alimentaria, haciendo que no se lleve a cabo productos derivados nutritivos escasos en el país como los son las bebidas lácteas fermentadas con gránulos de kéfir, éstas no son muy destacadas debido a la falta de conocimiento sobre su forma de elaboración, tipo de bebidas, beneficios, aplicaciones etc. (Villacis & Monzón, 2017).

Lopitz et al. (2006), indican que la importancia de suplir este tipo de bebidas en la industria alimentaria es la intolerancia a la lactosa, siendo éste un problema que afecta a más del 70% de la población. Los pacientes que presentan este problema tienen baja cantidad de lactasa, enzima que permite la digestión, se

demonstró que la ingesta de productos lácteos fermentados con bacterias probióticas, disminuían los síntomas de la intolerancia a la lactosa.

En el Ecuador alrededor del 40% de la producción hortofrutícola sufre pérdidas poscosecha por sobreproducción. Esto significa que cuatro de cada diez productos se pudren en su camino al consumidor final; debido a diferentes factores expuestos como la manipulación, el tiempo, empaques inadecuados, fallas y carencias en los procesos son los principales factores de pérdida (Heredia, 2016). Debido a que existe gran disponibilidad de frutas se puede crear nuevos productos aprovechando sus beneficios y ayudar a la disminución de estas pérdidas.

El problema por investigar consiste en encontrar las condiciones en que se maximice la producción de prebióticos y se obtenga los más altos niveles de población de microorganismos probióticos que forman parte del gránulo de kéfir en una bebida fermentada a base de lactosuero y jugo de frutos andinos.

## **1.2 JUSTIFICACIÓN**

La presente investigación estudiará una bebida funcional a base de suero de leche de cabra, jugo de frutos andinos y su fermentación a base kéfir, dando como resultado una simbiosis de bacterias y levaduras benéficas para la salud, que restaura la flora intestinal, mejorando la absorción de nutrientes de los alimentos (Sabokbar et al., 2015); en pocas palabras se puede decir que es una bebida altamente nutritiva concentrada que mejora, recupera y conserva la salud de las personas.

El suero de leche es una fuente rica de nutrientes como son la lactosa, el ácido láctico, proteínas solubles, lípidos y sales minerales (Bedoya, 2016). Éste presenta un interesante panorama para la industria debido a la posible transformación en productos de mayor valor agregado. Una de las alternativas para disminuir las pérdidas que provocan a los productores de derivados lácteos al tener que tratar este subproducto en plantas especializadas de tratamiento, es mediante el aprovechamiento como materia prima para la obtención de bebidas (López, 2017).

Conforme lo establece la norma INEN 2395, (2011), leches fermentadas, por las bondades nutricionales que presenta al tener un buen contenido de proteínas, grasa, minerales como el calcio, potasio, fósforo, fosfatos y vitamina A, por razones de salud como el síndrome de mala absorción o intolerancia a la lactosa pueden consumirlo sin mayor dificultad.

Los probióticos como microorganismos vivos adicionados tienen propiedades en la composición de su microflora, que permanecen activos en los intestinos, ayudan al organismo a combatir diversas enfermedades (Otsoa & Rementeria, 2006). Es así como en los diversos estudios de alimentos fermentados, que contienen probióticos, se encuentra varios referentes al kéfir, promoviendo funciones saludables.

Las frutas que van a ser empleadas en la elaboración de la bebida fermentada es el tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*) cuyos compuestos fenólicos reportados son responsables de su alto poder antioxidante, siendo uno de los frutos andinos con alto potencial nutraceutico (Salazar et al., 2016). De igual forma la fresa (*fragaria sp.*) contiene propiedades estimulantes y antioxidantes, posee una alta dosis de vitamina C, adicionalmente es rica en fitonutrientes que permite combatir la incidencia de los radicales libres (Posada, Olmos & Vargas, 2011).

Por lo tanto, es indispensable generar planteamientos tecnológicos que permitan el desarrollo de productos innovadores como las bebidas fermentadas, aprovechando los recursos de la biodiversidad como lo son las frutas y el suero de leche de cabra, con la finalidad de crear un gran potencial para el desarrollo de alimentos con múltiples propiedades funcionales, evitando pérdidas económicas y daños al medio ambiente.

## **1.3 OBJETIVOS**

### **1.3.1 Objetivo General**

Elaborar una bebida funcional a partir de mezclas de suero de leche de cabra y jugos de frutos andinos, que, fermentada con gránulos de kéfir, alcancen los mayores valores de sus características nutraceuticas y de aceptabilidad.

### **1.3.2 Objetivos Específicos**

- Determinar la proporción optima de suero de leche de cabra y jugos de frutos andinos, con los que se maximicen las propiedades nutraceuticas y de aceptabilidad.
- Establecer los parámetros óptimos para la obtención del cultivo láctico.
- Evaluar las cualidades fisicoquímicas, nutricionales y organolépticas del producto final.

## **1.4 HIPÓTESIS**

### **1.4.1 Hipótesis Nula**

Una bebida fermentada obtenida de una mezcla optimizada de suero de leche y jugos de frutas andinos no provee de valores nutricionales (probióticos + vitaminas) al preparado que superen a los del jugo y el suero empleados en su preparación, por separado.

### **1.4.2 Hipótesis Alternativa**

Una bebida fermentada obtenida de una mezcla optimizada de suero de leche y jugos de frutas andinos incrementa en más del 25% los conteos de bacterias acidolácticas del preparado respecto a los del jugo y el suero empleados en su preparación por separado.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1. SUERO DE LECHE

El suero de leche o lactosuero es el líquido que se extrae durante la obtención de queso y contiene los elementos que no se incorporan en el coagulación de la caseína. Posee alto contenido nutricional (Brito & Villalón, 2015). No obstante, un porcentaje menor es utilizado como alimento para animales y el restante desechado.

En la elaboración de queso de cabra, el suero de leche representa de 80 a 90% del volumen de la leche y está conformada por una gran parte de compuestos hidrosolubles, siendo el 94% de lactosa, el 26% de las proteínas, el 7% de la materia grasa y vitaminas y minerales solubles en agua según Bedoya, (2016).

A diferencia del SL de vaca, el SL de cabra contiene proteína más fina, la grasa está compuesto por ácidos grasos de cadena corta como el cáprico, caprílico y capríco; estos producen glóbulos de grasa pequeños, prescindiendo de las sales biliares para su digestión y absorción, metabolizándose rápidamente, evitando su acumulación y el aumento en los niveles del colesterol (Bazán, 2020).

La composición aproximada del lactosuero de cabra es de 92.8 % de agua, 4.7 de lactosa, 0.71 de proteína, 0.6% de cenizas, 0.35% de grasa, 0.21% de ácido láctico y vitaminas hidrosolubles (Pérez & González, 2016), resultando así, un subproducto con buenas características nutricionales.

**Tabla 1**

*Análisis Comparativo de Leche de Cabra, SL de Cabra Y SL de Vaca.*

<b>Componentes %</b>	<b>Leche cabra</b>	<b>SL cabra</b>	<b>SL vaca</b>
Sólidos totales	15.20	6.61	6.30
Lactosa	5.10	4.40	4.50
Proteína	3.30	0.65	0.80
Grasa	6.00	0.67	0.40
Cenizas	0.89	0.60	0.23

*Nota.* Tomado de Pérez & González, (2016).

Según Bedoya (2016), describe que el suero es un excelente medio de cultivo, cuya principal fuente de carbono es la lactosa que se puede transformar en glucosa y galactosa, en la primera fermentación se transforma en ácido láctico en la segunda puede utilizar los metabolitos como fuente de carbono.

### 2.1.1. Tipos de Suero de Leche

La composición del lactosuero depende del tipo de queso, de las técnicas de elaboración queseras empleadas, del tratamiento que experimenta el suero, del estado fisiológico del animal, además la composición química de la leche de la que proviene (López, 2017). Según la forma en la que se produce la separación de la principal proteína de la leche, la caseína, se obtiene el suero lácteo dulce y ácido.

El suero dulce se obtiene de la coagulación enzimática de las caseínas durante la fabricación de la mayoría de los quesos como el Cheddar, Swiss, Gouda, Mozzarella. Este tipo de suero es el más abundante y generalmente posee un mayor pH ( $\geq 5,6$ ) y un mayor contenido en lactosa (Pérez & González, 2016).

El suero ácido se obtiene de la elaboración de quesos frescos de coagulación ácida como el *cottage* o *quark*, obtenidos mediante fermentación microbiana y de la extracción industrial de caseínas y caseinatos a través de la acidificación directa mediante la adición de acidulantes o ácidos minerales (Brito & Villalón, 2015).

Además, según López (2017), describe que el suero ácido presenta un pH  $\leq 5,1$ , y un menor contenido en lactosa, ya que ésta se convierte en ácido láctico. Sin embargo, posee una mayor concentración de minerales en especial el calcio.

**Tabla 2**

*Comparación Nutricional Del Suero Dulce Y Ácido.*

<b>Componentes</b>	<b>Suero dulce</b>	<b>Suero ácido</b>
pH	6.20	4.60
Extracto seco%	6.61	6.40
Lactosa %	4.71	4.20
Proteína %	0.77	0.50
Grasa (g/l)	0.51	0.04
Calcio (g/l)	0.35	1.35

*Nota.* Tomado de López, (2017).

### 2.1.2. Usos del Suero de Leche

En el estudio realizado por Lezcano (2008), se determinó que el suero tiene un alto valor nutritivo y se lo puede aplicar para la creación de diferentes productos, por lo que a nivel mundial se han realizado considerables esfuerzos dirigidos a su aprovechamiento, tanto a nivel de investigación y tecnología con especial enfoque en la industria alimentaria.

**Tabla 3**

*Usos del Lactosuero.*

Usos del lactosuero	Características
Productos tradicionalmente obtenidos	Suero en polvo, lactosa y concentrados proteicos utilizados principalmente en confitería.
El suero como medio de cultivo	Se utiliza como sustrato para la obtención de productos obtenidos por fermentación.
Propagación de inóculo en las queserías	Se utiliza para propagación y conservación de cultivos BAL, también como inhibidores de fagos.
Producción de ácidos orgánicos	Obtención de ácido láctico a través de una fermentación con BAL del 80-90% de lactosa es convertida en ácido láctico en 24 horas.
Producción de alcohol	La generación de un máximo entre 2 y 3% de etanol al final de la fermentación siendo el limitante la baja concentración de lactosa.
Bebidas fermentadas	La creación de bebidas a partir de bacterias lácticas o mezclas con levaduras.
Producción de enzimas	Enzimas microbianas se pueden obtener al utilizar el suero como sustrato como la $\beta$ galactosidasa cuya producción es altamente rentable.
Jarabes de suero	Cuando se hidroliza la lactosa del suero y se concentra al 60% se obtiene un jarabe dulce utilizado para edulcorantes en la industria alimentaria.
Producción de biopelículas	Las biopelículas son utilizadas para envasar productos como comida rápida y comida para mascotas.
Producción de probióticos y bacteriocinas.	Se ha demostrado con éxito la producción de probióticos y bacteriocinas a partir de suero de leche.

*Nota.* Tomado de Lomas, (2005).

Las bebidas fermentadas con bacterias lácticas por lo general se las realiza utilizando un medio de cultivo provenientes de leches animales, vegetales o frutales, todo esto dependiendo del tipo de bacterias fermentadoras o el tipo de bebidas o producto que se desea obtener, en varios países generalmente se mezclan levaduras con jugos de frutas u otros saborizantes creando así bebidas con altas propiedades probióticas (Bazán, 2020).

## **2.2. TOMATE DE ÁRBOL (*Cyphomandra betacea*)**

El tomate de árbol es una especie que se origina en la zona andina de Sudamérica. En Ecuador es un cultivo tradicional de climas templados o tropicales, ésta se cultiva por su fruto, que es visualmente atractivo, existen variedades con buenas características organolépticas, este fruto andino se encuentra valorizado por su alto valor nutricional y comercial (Marquez & Otero, 2007).

Según el estudio realizado por Villares, Sánchez & Mora (2018), el tomate de árbol es un fruto promisorio utilizado en el desarrollo de bebidas y néctares por su color, valor nutritivo y sabor agridulce, posee un sinnúmero de componentes bioactivos que son responsables de otorgar propiedades funcionales, biológicas y nutraceuticas a las personas que ingieran diariamente un vaso de jugo fresco.

### **2.2.1. Morfología y Taxonomía**

El tomate de árbol pertenece al género *Cyphomandra*, y abarca entre 20-40 especies originarias de América tropical, encontrándose dispersas en América del Sur, de acuerdo con investigaciones, evidencias moleculares, estudios morfológicos y datos de campo, el tomate de árbol está relacionado con un complejo de materiales silvestres bolivianos (Heredia, 2016).

Según Cerón (2012), describe al tomate de árbol como un cultivo autóctono ecuatoriano, puesto que existen variedades propias, seleccionadas y domesticadas por los pobladores aborígenes, se siembra en el Ecuador principalmente en los valles andinos templados; en esta zona se cultiva alrededor de 6000 hectáreas, con rendimientos que se encuentran entre 65 y 85 ton/ha. Año (Meza & Méndez, 2009). El tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*), presenta la estructura taxonómica que se describe en la tabla 4 (Coronado & Guerra, 2016).

**Tabla 4**

*Taxonomía del Tomate Árbol*

<b>Clasificación taxonómica</b>	
Reino	<i>Plantae</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Orden	<i>Solanales</i>
Familia	<i>Solanaceae</i>
Género	<i>Cyphomandra</i>
Especie	<i>Cyphomandra betacea</i>

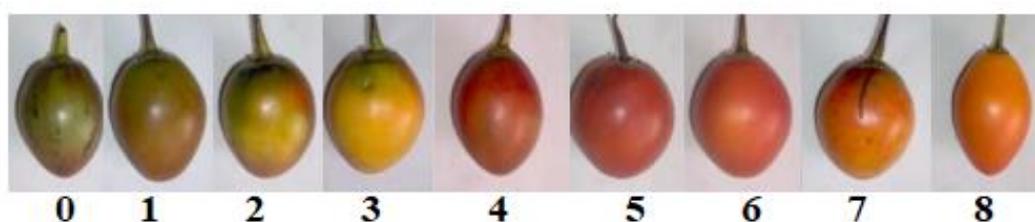
*Nota.* Tomado de Ciro & Vahos, (2005).

### **2.2.2. Estado de madurez y características del tomate de árbol**

El tomate de árbol es una planta arbustiva de tallo que alcanza una altura entre 1 y 2 metros dependiendo del genotipo de la planta. Los frutos son colgantes, su tamaño varía entre 5 a 15 cm de largo, su forma es elipsoidal y un poco alargada. El color de la pulpa va desde anaranjada claro a oscuro, las semillas son comestibles. La cascara es dura, delgada, un poco amarga (Otero, 2007).

**Figura 1**

*Estado de Madurez del Tomate de Árbol*



*Nota.* Tomado de (García, 2008).

El tomate de árbol es una fruta no climatérica, para determinar el grado de madurez existen parámetros conocidos, los cuales se basan en características físicas (color de piel, pulpa y corteza), características químicas (sólidos solubles o grados brix, el pH y acidez), características organolépticas (sabor, aroma, textura y color). El punto del mayor desarrollo de las cualidades organolépticas se evidencian en el estado de madurez fisiológica en la figura 1, en los estados 7 y 8 considerados como estados de madurez comercial según García, (2008).

### 2.2.3. Composición e Información Nutricional

De acuerdo con el estudio de Quezada (2011), el tomate de árbol tiene buenas cualidades físicas, nutritivas y organolépticas, pese a sus características alimentarias sobresalientes no se da la importancia que merece dentro de la alimentación humana como describe en la tabla 5.

**Tabla 5**

*Composición Nutricional De Tomate De Árbol.*

<b>Parámetros</b>	<b>Cantidad</b>
Acidez	1.93-1.60
°Brix	11.60-10.50
Calorías	30
pH	3.17-3.80
Humedad (%)	86.03-87.07
Carbohidratos(g)	7
Ceniza (g)	0.6
Fibra (g)	1.1
Proteína (g)	2
Caroteno (IU)	1000
Calcio (mg)	9
Fósforo (mg)	41
Hierro (mg)	0.9
Niacina (mg)	1.07
Riboflavina (mg)	0.03
Tiamina (mg)	0.1
Vitamina C (mg)	25
Vitamina E (mg)	2010

*Nota.* Composición por cada 100 g de pulpa, tomado de Alvarado, (2007).

Según estudios el tomate de árbol contiene los siguientes beneficios nutricionales. Se sugiere su consumo para prevenir y reducir el riesgo de enfermedades degenerativas, cardiovasculares y cáncer, debido a la presencia de antioxidantes como la vitamina A y C. así como por su alto contenido en fibra soluble que ayuda a prevenir y disminuir el estreñimiento. Además, es útil en caso de colesterol alto, y es beneficiosa en el control de la diabetes según Meza & Méndez (2009).

Dado que su acción antioxidante permite fortalecer el sistema inmunológico, investigaciones confirman que la toma de jugo de tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*) influye positivamente en las enzimas antioxidantes del cuerpo como la glutatión peroxidasa y la superóxido dismutasa, reduciendo así la oxidación celular, los flavonoides son uno de los antioxidantes más potentes conocido, por su gran capacidad de capturar especies reactivas de oxígeno (Quezada, 2011).

Por su gran contenido de fibra la fruta tiene un leve efecto laxante, estas propiedades son de gran ayuda para mejorar las funciones del tránsito intestinal y la regulación de este. El tomate de árbol está a disponibilidad todo el año, por lo que se puede consumir en cualquier momento según Cerón, (2012).

Según Ciro & Vahos (2005), reportan que las propiedades químicas le confieren una potencial de acción preventiva al tomate de árbol sobre enfermedades cardiovasculares, protegiendo las biomoléculas críticas como los lípidos y las lipoproteínas de baja densidad (LDL). De igual manera el licopeno tiene efecto anticarcinogénico ya que su acción es proteger las proteínas y el ADN.

#### **2.2.4. Usos e Importancia Económica**

El tomate de árbol es una fruta muy adaptable en cuanto a sus preparaciones. Se puede consumir como fruta fresca, se puede ingerir como jugo, también se observa un rendimiento del 84 a 87% en pulpa en comparación a otras frutas como el mango, durazno y el melón con porcentajes de 45%, 74%, 59% (Grijalva, 2016).

En cuanto a la importancia económica el tomate de árbol ocupa una creciente demanda para consumo en fresco, debido a características físicas, nutritivas y organolépticas del fruto (Villares, Sánchez, & Mora, 2018).

#### **2.2.5. Zonas de Producción del Tomate de Árbol**

En el Ecuador los datos porcentuales de superficie de siembra donde existe mayor cultivo de tomate de árbol para 2015 son las provincias de Tungurahua (39.2%), Chimborazo (22.2%), Azuay (14.1%), Pichincha (10.0%), e Imbabura (4.8%) (Coronado & Guerra, 2016).

## **2.3. FRESA (*Fragaria* sp.)**

La fresa es nativa de América, fue llevada desde tiempos de la conquista a Europa, donde tuvo gran aceptación y, gracias a diversos cruces, dio origen a la planta que hoy se cultiva, de enorme interés comercial según (Ugarte, 2020).

Algunos argumentan que es de origen europeo de la región alpínica, mientras que otros sugieren que es de origen chileno, desde donde un funcionario francés lo exportó a Europa las plantas madres, utilizándola para la composición del híbrido *Fragaria* x *Ananassa*, al que pertenecen todas las variedades de fresa actualmente explotadas comercialmente (Beltrán & Ramos, 2010).

### **2.3.1. Morfología y Taxonomía**

En cada cultivo, elegir qué variedad plantar es un paso imprescindible para lograr el mejor rendimiento y productividad. En el caso distintivo de la fresa, la innovación varietal es muy actual gracias al progreso del conocimiento sobre la genética de la especie y la introducción eficiente de nuevas variedades para adaptarse a diferentes entornos ecológicos diferentes (Vursavus & Kelbek, 2006).

En climas cálidos la cosecha se lleva a cabo entre septiembre y fines de noviembre. Por lo general se debe recolectar todos los días o día de por medio para obtener frutillas en su punto óptimo: casi completamente rojas y su parte comestible es aún firme. En este estado tienen el máximo de azúcar y la mayor concentración de ácido ascórbico (vitamina C) (Casierra et al., 2011).

En la investigación realizada por Jha & Kingsly (2020), las variedades de frutillas o fresas que más se cultivan en el Ecuador son: Oso grande, Diamante, Monterrey y Albión. Tienen texturas y pesos similares y se diferencian por su tamaño, donde se cultiva frutilla los productores se han preocupado preferentemente en seleccionar las mejores variedades de acuerdo con sus medios ecológicos. La fresa (*Fragaria* sp.), posee la siguiente estructura taxonómica que se describe en la tabla 6 (Sistrunk & Morris, 2003).

**Tabla 6**

*Taxonomía de la Fresa.*

<b>Clasificación taxonómica</b>	
Reino	<i>Plantae</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Rosidae</i>
Orden	<i>Rosales</i>
Familia	<i>Rosaceae</i>
Género	<i>Fragaria</i>
Especie	<i>Fragaria dioica</i>

*Nota.* Tomado de Sistrunk & Morris, (2003)

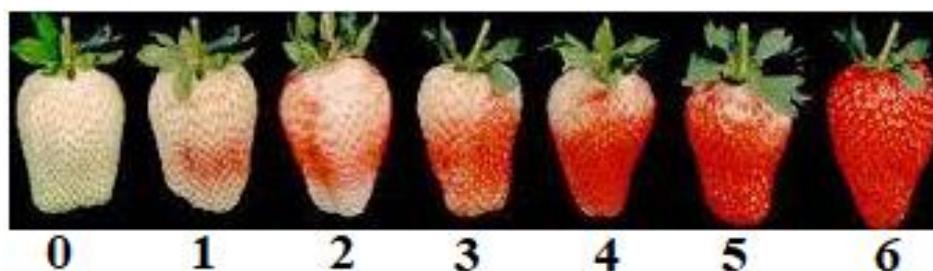
### **2.3.2. Estado de Madurez y Características de la fresa**

El fruto de fresa pertenece a la categoría de los no climatéricos, por lo que no completará su madurez comercial una vez recolectado, la forma y tamaño de las fresas dependen mucho de las cualidades varietales. El tallo está comprimido en una roseta basal o corona, de la que surgen las hojas en muy estrechos intervalos, trifoliadas, dentadas, haz glabrescente y envés con pelos aplicados, cuyos peciolo pueden alcanzar los 20 cm de altura (Valencia & Fisher, 2016).

El arbusto en las cualidades adecuadas pueden alcanzar los 1-3m, aunque lo normal es que no sobrepasen los 50 cm, encontrándose la mayor parte en los primeros 35 cm., aunque los factores ambientales afectan en gran medida a este carácter (Vursavus & Kelbek, 2006).

### **Figura 2**

*Índice de Madurez de la fresa*



*Nota.* Tomado de (Valencia & Fisher, 2016).

La fresa es un fruto de color rojo brillante, succulento y perfumado. En la figura 2 se presenta el esquema del índice de madurez, utilizado por diferentes industrias para referencias de calidad, siendo el índice de madurez ideal entre 3-5, el punto del mayor desarrollo de las cualidades organolépticas se evidencian en el estado de madurez 6 conocido como índice de consumo y entre 0-2 es una fruta con falta de madurez para el consumo humano (Kelbek, 2006).

### 2.3.3. Composición e Información Nutricional

En el estudio de Avigdory (2016), tras el agua, su principal componente son los hidratos de carbono, la mayoría simples como la fructosa, por lo que su valor calórico es bajo. Destaca su aporte de fósforo y en lo que a vitaminas se refiere, además contiene una cantidad moderada de vitaminas A, vitamina C.

**Tabla 7**

*Valores Nutricionales de la Fresa*

<b>Parámetros</b>	<b>Cantidad</b>
Aporte calórico	32 kcal
Agua	89.90%
Proteínas	0.7 mg
Grasa	0.5 mg
Carbohidratos	6.90%
Fibra	1.4 g
Potasio	190 mg
Magnesio	12 mg
Vitamina A	5 mg
Vitamina C	60 mg
Vitamina E	0.23 mg
Fósforo	27 mg
Fenoles totales	58-210 mg
Antocianinas totales	55-145 mg

*Nota.* Composición por cada 100 g de pulpa, tomado de Olmos, (2011).

La fresa contiene un alto valor nutritivo siendo rica en fructosa y sacarosa y baja en carbohidratos. Su consumo puede elevar los índices de absorción de hierro presentes en los vegetales, huevos y carne. Además, es levemente laxante, diurética y cubre las carencias de minerales y vitaminas del complejo B (Camp, 2006).

Además, Beltrán & Ramos (2010), indican que posee alta cantidad de quercitina que es capaz de neutralizar los radicales libres responsables del envejecimiento de las células. Es una de las frutas que más se consumen por su buen sabor, tanto en fresco como procesado en una gran variedad de formas y productos.

A estas frutas se les atribuye diversas propiedades, por su abundancia en vitamina C. Una persona adulta necesita 64 mg de vitamina C diarios las cuales 100 g de fresas satisfacen la totalidad de esta recomendación. La fresa posee una estudiada acción antioxidante, tal como los antocianos y la vitamina E, también presentes en las fresas. Los antioxidantes cumplen la acción de bloquear el efecto dañino de los denominados radicales libres (Sistrunk & Morris, 2003).

Debido a su composición, estas frutas poseen un efecto diurético beneficioso por su elevado contenido de elementos como el potasio y bajo en sodio, resultan recomendables para personas que sufren de hipertensión arterial, afecciones de vasos sanguíneos y corazón (Jha & Kingsly, 2020).

#### **2.3.4. Usos e Importancia Económica**

Por su sabor es excelente complemento para consumir en fresco o a nivel industrial. La importancia económica de la fresa en el Ecuador tiende a estar en crecimiento debido a la demanda de este producto, el cultivo de fresa tiene un 20% de incremento anual por lo tanto el 60% se destina al mercado nacional y aproximadamente de 40% se exporta (Valencia & Fisher, 2016).

#### **2.3.5. Zonas de Producción de Fresa**

El cultivo de fresa en Ecuador se encuentra el mayor parte en la provincia de Pichincha, la mayor producción se encuentra en el noroccidente de Quito siendo las parroquias más productivas de fresa Checa, Pifo, El Quinche, Yaruquí, Tababela en el país. Según datos aproximados esta zona produce entre 6 - 7 mil cajas diarias de fresa (Kasperbauer et al., 2001).

## 2.4. FERMENTACIÓN

El conocimiento sobre el fenómeno de la fermentación es quizá tan antiguo como la agricultura, ya que durante miles de años que el hombre ha preferido convertir el zumo de uvas dulces en vino, así como la conversión de harina de trigo en pan y otros productos obtenidos por fermentación (Varela, 2008).

Es un proceso de naturaleza bioquímica que se da lugar en un ambiente anaeróbico, por degradación de una sustancia orgánica en compuestos que actúan de donadores y aceptores de electrones con liberación de energía, siendo el producto final un compuesto orgánico de interés como, por ejemplo, el ácido láctico y el alcohol etílico; mediante la acción de microorganismos específicos tales como mohos, bacterias y levaduras (Lezcano, 2008).

En la investigación realizada por Rivera et al.(2012), y muchos estudios posteriores afinaron los conocimientos relacionados con el fenómeno de la fermentación, pues se dilucidaron las rutas metabólicas iniciando con la glicólisis permitiendo que los microorganismos transformen los azúcares en ácido pirúvico. A partir del ácido pirúvico, las rutas metabólicas difieren, según el tipo de fermentación.

Al inicio de las investigaciones científicas vinculadas con la fermentación se creía que las moléculas imprescindibles para tal proceso eran los carbohidratos. No obstante, tiempo después se percibió que muchos ácidos orgánicos como las proteínas, grasas y otros compuestos se pueden utilizar como sustratos fermentables por diferentes tipos de microorganismos, ya que pueden funcionar como fuente de alimento y de energía para estos (Varela, 2008).

En la fermentación se utilizan microorganismos para convertir materia orgánica, catalizadas por diversas enzimas, se considera fermentación de un alimento cuando diversos componentes químicos son alterados por microorganismos que se considerados benéficos y su composición química resulta cambiada. Los productos finales caracterizan diversos tipos de fermentaciones (Guevara, 2017).

### **2.4.1. Usos de la Fermentación**

La fermentación tiene diversos usos utilizados únicamente en la industria alimentaria. Puede producir nutrientes importantes o eliminar antinutrientes. La fermentación puede preservar los alimentos, haciendo uso de su energía creando condiciones inadecuadas para organismos indeseables (Cortés & Zapata, 2014).

Según Lezcano (2008), numerosas industrias sacan provecho de la fermentación para obtener determinadas sustancias. Como las industrias del queso, las que se llevan a cabo mediante un proceso de fermentación propiónica realizándolo con el fin de preservar muchos tipos de alimentos que contengan presencia del ácido láctico actuando como preservante debido a la fermentación láctica.

Con la industria alcohólica ocurre algo similar en la elaboración de vinos, cervezas u otros tipos de licores, que implica un proceso de elaboración en el que interviene la fermentación alcohólica. Por otro lado, si algunos licores como el vino se dejan destapados mucho rato, el oxígeno añadido iniciará la fermentación acética y la bebida empezará a avinagrarse (Mayer & Montoya, 2016).

De acuerdo con Guevara (2017), la industria alimentaria ha visto muchos beneficios en la elaboración de diferentes productos fermentados como lo es en la conversión del mosto en vino, cebada en cerveza y carbohidratos en dióxido de carbono para hacer productos de panadería, los propósitos generales en la fermentación de alimentos sirven para:

- Enriquece los alimentos desarrollando una gran variedad de sabores, aromas y texturas en la matriz alimentaria.
- Conservación de grandes cantidades de alimentos a través de diversas fermentaciones ácido lácticas, ácido acéticas y alcalinas.
- Enriquece el contenido de alimentos con proteínas, aminoácidos, ácidos grasos esenciales, vitaminas y minerales.
- Desintoxicación durante la fermentación la fermentación de alimentos.
- Reduce el tiempo de cocción y el uso de combustible.

## 2.4.2. Tipos de Fermentaciones

En la investigación realizada por Lomas (2005), en la industria alimenticia el uso de microorganismos seleccionados son utilizados para brindar una textura requerida en los alimentos, también para conservarlos, así como para desarrollar en ellos nuevos aromas y sabores que aumenten sus cualidades y valor nutritivo. La sustancia obtenida al final del proceso de fermentación, se lo puede clasificar en:

- **Fermentación alcohólica.** Es un proceso llevado a cabo principalmente por levaduras, en el que, a partir de diversos sustratos, se produce una cantidad de alcohol etanol, dióxido de carbono y ATP. Este es el proceso empleado para producir las bebidas alcohólicas como etanol, vinos, cerveza, licores, bebidas destiladas entre otros (Syrokou et al, 2019).
- **Fermentación acética.** Se da por medio de bacterias del género *Acetobacter*, que oxida el alcohol etílico en ácido acético, es decir, el alcohol en vinagre. Es, no obstante, un proceso aeróbico, por lo que puede darse en los vinos expuestos a un exceso de oxígeno produciendo un vino dañado.
- **Fermentación láctica.** En este proceso intervienen bacterias ácido lácticas (BAL) que transforman el azúcar a subproducto ácido láctico, ácido fórmico, etanol y otros compuestos que brindan característicos aromas y sabores al producto final, se puede utilizar en lácteos, cárnicos, etc. (Tiss & Souiy, 2020).
- **Fermentación butírica.** Se realiza mediante la conversión de glucosa en ácido butírico y gas, esto último le confiere un olor que es característicamente desagradable. Es llevada a cabo principalmente por las bacterias del género *Clostridium* y necesita la presencia de lactosa (Wang, 2020).
- **Fermentación butanodiólica.** Es una fermentación realizada por enterobacterias que en su proceso liberan dióxido de carbono y generan butanodiol, siendo un alcohol viscoso e incoloro, esta es variante de la fermentación láctica.
- **Fermentación propiónica.** Es llevada a cabo por el dióxido de carbono, ácido acético y el ácido succínico para la obtención de ácido propiónico, una sustancia con propiedades corrosiva y un olor acre (Vardjan, 2013).

## 2.5. FERMENTACIONES ÁCIDO-LÁCTICAS

Una fermentación ácido-láctica se define como una oxidación parcial de los átomos de carbono de un azúcar, a partir del catabolismo del sustrato inicial por las enzimas características de un microorganismo, acoplada a la reducción de un compuesto orgánico generando ácido láctico principalmente (Quintero, 2002).

En la investigación realizada por Pérez & González (2016), las diferencias en las fermentaciones lácticas residen en la especie de la que procede la leche, la concentración, la temperatura, el tratamiento térmico y la cantidad de inóculo; de acuerdo con estas condiciones predomina un tipo de bacteria láctica u otro que, generan distintos componentes aromáticos.

Los microorganismos pueden ser procedentes de cultivos mixtos o puros. Un cultivo mixto, está conformado por una variedad indefinida de cepas de diferentes tipos de bacterias, estos cultivos tienen una composición equilibrada de forma dinámica entre las diferentes bacterias del cultivo. Un cultivo puro, está constituido por una única cepa (Otsoa & Rementeria, 2006).

La transformación bioquímica de los componentes de la leche de cabra, sus derivados y subproductos, las BAL produce importantes cambios en los productos fermentados que dependen de las bacterias del cultivo y del tipo de producto elaborado. Las principales consecuencias del desarrollo de las BAL en la leche de cabra y sus subproductos (Walstra, Geurts, & Jellema, 2001).

### Tabla 8

*Principales Consecuencias de Desarrollo de las BAL en la Leche de Cabra.*

<b>Producción de la lactosa. El ácido formado interviene en:</b>	<b>Formación de otros compuestos:</b>
La conservación del producto debido al ácido láctico y pH bajo.	Componentes del sabor.
La textura debido a que el pH modifica propiedades reológicas.	Dióxido de carbono.
El sabor del producto.	Exapolisacáridos bacterianos.

*Nota.* Tomado de (Walstra, Geurts, & Jellema, 2001).

Las modificaciones realizadas por las BAL determinan tanto la vida útil, consistencia y desarrollo de cualidades organolépticas de los productos lácteos fermentados. La utilización de la leche de cabra y sus subproductos como medio de sustrato para una fermentación ácido-láctica, es por el principal carbohidrato existente en estos alimentos, la lactosa, el cual es utilizado por los microorganismos como fuente de carbono (Sánchez & Medina, 2015).

La funcionalidad de las fermentaciones ácido-lácticas depende mucho de las tecnologías de proceso usadas, la correcta selección, conservación, manejo, resiembra y propagación de los cultivos iniciadores o también denominados inóculos de trabajo, lo que permite homogeneizar y mantener una calidad uniforme del producto final (Parra, 2010).

Adicionalmente, según previas investigaciones de Witthuhn & Schoeman (2005), indican que los cultivos microbianos se conservan en pequeñas cantidades conocidas como cultivos de reserva. Cuando los cultivos se reactivan para su utilización en la industria de productos lácteos, se requiere sistemas de resiembra a gran escala con objetivo de obtener el volumen máximo de inóculo. El cultivo madre debe reunir las siguientes características (Brito & Villalón, 2015).

- Contener la mayor cantidad de bacterias viables en un volumen máximo al del cultivo de reserva.
- Deber de estar inocuos, limpios y exentos de contaminantes, como coliformes o de mohos.
- Debe trabajar y estar activo en las condiciones óptimas de procesado.
- Estar inoculados en el sustrato estéril, como la leche, productos o subproductos lácteos.
- Preservar su actividad en refrigeración a bajas temperaturas esto permite reducir o mantener la actividad metabólica de los microorganismos, es aplicable únicamente en periodos de almacenamiento cortos.

### 2.5.1. Bacterias Ácido Lácticas

Las bacterias ácido lácticas (BAL) han sido de gran trascendencia en la modificación de alimentos por su considerable aporte al valor de los productos, desempeñan un papel importante en la industria alimentaria, por su contribución significativa al olor, sabor, textura, cualidades sensoriales, propiedades terapéuticas, nutraceúticas, probióticas que aumentan notablemente el valor nutricional de los productos alimentarios (Muñoz & Reyes, 2009).

Según Agudelo & Torres (2015), debido a varias de sus propiedades metabólicas comparten otros rasgos comunes como ser aerotolerantes, no forman esporas, no reducen el nitrato y no producen pigmentos. Varios de los metabolitos producidos en la fermentación por este tipo de bacterias son los ácidos orgánicos, sustancias conservantes, polisacáridos, vitaminas, endulzantes, olores, sabores y minerales entre otros que otorgan un valor agregado al producto final.

La conservación de los alimentos fermentados mediante las bacterias del ácido láctico se debe esencialmente a la conversión de los azúcares en ácidos orgánicos principalmente láctico y acético, causando reducción del pH y removiendo los azúcares como fuente nutriente según Cortés & Zapata, (2014).

Revisiones taxonómicas recientes sugieren que las bacterias del ácido láctico comprenden los siguientes géneros: *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Sporolactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, y *Vagococcus*. Por otro lado, los géneros *Enterococcus*, *Carnobacterium*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, y *Streptococcus* conforman el corazón del grupo de bacterias del ácido láctico, y son admitidos como integrantes de este grupo (Casaus & Huertas, 2017).

Las bacterias lácticas pueden sobrevivir y desarrollarse en presencia de pH relativamente bajo (pH 3.2), como a pH altos (pH 9.6); teniendo como pH óptimo para su desarrollo de pH 4-4.5, trabajan con un intercambio paralelo de ácido láctico y de protones al exterior celular, que igualmente contribuyen a la homeostasis del pH interno, originando energía (Parra, 2010).

### 2.5.2. Clasificación de Bacterias Ácido Lácticas

Las bacterias ácido lácticas (BAL) se definen como una clase funcional, un grupo heterogéneo de bacterias Gram positivas, no patógenas, no tóxicas, fermentadoras, que producen ácido láctico a partir de carbohidratos, son útiles como cultivos iniciadores para la fermentación de alimentos (Huseini et al., 2012).

Las bacterias del ácido láctico se han clasificado en diferentes géneros se ha basado en la morfología, modo de fermentación de la glucosa, crecimiento en cambios de temperaturas, configuración del ácido láctico, capacidad de desarrollarse a altas concentraciones salinas, y tolerancia a pH ácidos o alcalinos, para algunos géneros la composición en ácidos grasos de acuerdo con Casaus & Huertas, (2017). Según Parra (2010), las BALs por su temperatura de desarrollo se clasifican en mesófilas y termófilas, por su fermentación de la lactosa en homofermentativas que produce solo ácido láctico y heterofermentativas que producen ácido láctico y otras.

Las bacterias homofermentativas degradan lactosa mediante sus rutas metabólicas hexosas difosfato que convierten 1 mol de glucosa en dos moles de ácido láctico, producen más del 85% de ácido láctico a partir de la glucosa (Guevara, 2017). Por otra parte, las bacterias heterofermentativas son un grupo que se encuentran comprendidos de miembros de los géneros *Lactococcus*, *Lactobacillos*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* y *Pediococcus spp.* Estas bacterias usan la vía metabólica de la pentosa fosfato según Parra, (2010). A continuación, se muestra la clasificación de las BAL según la temperatura.

**Tabla 9**

*Clasificación BAL según la Temperatura.*

<b>Parámetros</b>	<b>Mesófilas</b>	<b>Termófilas</b>
Temperatura incubación °C	20-25	40-45
Volumen de cultivo líquido %	1-2%	2-3%
Tiempo de incubación en horas	18-20	2-4
Acidez final % de ácido láctico	0.8%	0.9%

*Nota.* Tomado de (Villacis & Monzón, 2017).

Se data que la temperatura óptima en donde la velocidad de crecimiento es más alta y depende de las propiedades del microorganismo utilizado, así como, también de las condiciones ambientales expuestas (Walstra & Jellema, 2001).

## **2.6. KÉFIR**

Según Marshall & Cole (2009), se llama kéfir tanto a los gránulos como a las bebidas lácteas fermentadas producidas por las variadas comunidades de microorganismos que están agrupadas mediante una matriz polisacárida denominada kefirán, siendo los responsables de esta fermentación ácido láctica.

La elaboración del kéfir está priorizada en la actividad fermentativa de la microbiota de los gránulos de kéfir que actúan sobre los componentes químicos de la leche o productos vegetales y frutales, están constituidos por un consorcio de microorganismos, unidos en una matriz de exopolisacáridos (Farnworth, 2008).

El kéfir es un alimento considerado probiótico con múltiples bioactividades tales como antihipertensiva, antimicrobiana, inmunomoduladora, es antitrombótica, opioide, antioxidante han sido las más reportadas y contiene minerales, (Londero, 2012). La propiedades prebióticas y probiótica da paso a la biodisponibilidad de los componentes de los productos lácteos con actividad biológica y a la presencia de metabolitos tales como ácidos orgánicos y bacteriocinas, lo sitúan de manera eficaz como alimento funcional (Lopitz, Elguezabal , & Garaizar, 2009).

Está comprobado que es un alimento que además del aporte nutricional, ha demostrado beneficiar una o más funciones fisiológicas del organismo, mejorando el estado de salud y bienestar (Núñez, Fernandez, & Acuña, 2009). Existen varios tipos de kéfir entre ellos está el kéfir de leche (KL) y el kéfir de agua (KA) éstos se producen tradicionalmente a partir de diferentes partículas semiblandas que contienen probióticos y se metabolizan en diferentes medios, dando así productos fermentados distintos

### 2.6.1. Kéfir de Leche

Son microorganismos en forma de nódulos con un lazo simbiótico complejo muy estable y específico. Los granos se asemejan a la coliflor son pequeños conglomerados de forma irregular, cada grano es 4 a 30 milímetros de diámetro, semiduros y de color blanco-amarillo (Irigoyen et al., 2005) (Fig.3). Por otra parte, el gránulo de kéfir posee un 80% de agua, 4-7 % de proteínas y 8-11% de un polisacárido denominado kefirán según Dertli & Hilmi, (2017).

#### Figura 3

*Gránulos de Kéfir de Leche*



*Nota.* Tomado de (Londero, 2012).

Los gránulos de kéfir están compuestos por una diversidad de microorganismos que brindan una gran cantidad y variabilidad de nutrientes biodisponibles en el medio de cultivo. En este sentido, la utilización de la lactosa como fuente de carbono durante la fermentación de productos lácteos ha sido muy estudiada y se conocen las rutas metabólicas correspondientes (Leite & Gudiño, 2013), por lo tanto, se sabe de la capacidad para la obtención de productos alimenticios funcionales.

Según Angulo & Lema (2009), la fermentación de suero por microorganismos de kéfir puede disminuir el alto contenido de lactosa en el suero de leche, produciendo principalmente ácido láctico y metabolitos que contribuyen al sabor, la textura, aumento de la solubilidad y dulzura de los carbohidratos del producto final. Existen diferentes propuestas para la aprovechar el lactosuero empleando gránulos de kéfir según Laureys, (2017).

Numerosos estudios han reportado la composición de la microbiota presente en los granos de kéfir, estos microorganismos simbióticos están constituidos principalmente por bifidobacterias, bacterias ácido lácticas (BAL), acéticas (BAA), y de levaduras. La tabla 10 se muestra la composición de la microbiota presente en los granos de kéfir mostrando gran variedad de especies de microorganismos que la conforman, particularmente los pertenecientes a las BAL, encontrando a las bifidobacterias en menor proporción (Liu et al., 2006).

### 2.6.2. Kéfir de Agua

Según Chen (2012), tanto el kéfir de agua (KA) como el de leche (KL) se producen tradicionalmente a partir de diferentes partículas semiblandas que contienen probióticos, si bien el KL proporciona cantidades significativas de proteínas, así como probióticos y prebióticos, KA puede ser una fuente muy importante de probióticos, prebióticos y antioxidantes para veganos y personas alérgicas. La bebida de KA se obtiene por fermentación de una solución a base de agua, que puede incluir frutas, verduras y una fuente de azúcar con granos intolerantes a los productos lácteos (Dertli & Lim, 2019).

#### Figura 4

*Gránulos de kéfir de agua.*



*Nota.* Tomado de (Zeynep et al., 2019)

Los gránulos de KA son de color translúcido, y de color blanco grisáceo, cerosos y de consistencia dura, estos granos son típicamente lisos y rara vez tienen gránulos subunitarios visibles, como se observa en KL, el color puede verse influenciado por el material de fermentación, por ejemplo, el color de las frutas o verduras (Aghlara et al., 2009).

Según Torres & Rodríguez (2017), informaron que los granos KA no crecen en la leche ya que *L. hilgardii* no metaboliza la lactosa y, por lo tanto, no se producen polisacáridos esenciales para aumentar la biomasa. Los granos KA contienen aproximadamente un 70% de *Lactobacillus* sp., 10% de *Leuconostoc* sp., 10% de *Acetobacter* sp., 5% de *Bifidobacterium* sp. Y 5% de otras bacterias (Fiorda et al, 2017).

Las diferencias en las estructuras de los granos KL y KA, así como sus condiciones de fermentación (sustrato y parámetros de fermentación), resultan de las diferentes composiciones microbianas de los dos tipos de granos, en el KL predominan los *Lactobacillus kefir*, *L. kefiranofaciens*, *L. kefirgranum* y *L. parakefiri* (Hatmal & Taha, 2018). Mientras que, *Lactobacillus paracasei*, *L. hilgardii*, *L. nagelii* y *S. cerevisiae* son microorganismos esenciales para la fermentación del KA (Laureys, 2017).

Según Puglierio & Lima (2021), las bebidas tienen propiedades fisicoquímicas y sensoriales distintivamente diferentes. KL es una bebida láctea viscosa y opaca, tiene un sabor ligeramente ácido. El dióxido de carbono, el ácido láctico, el acetaldehído, la acetoina y pequeñas cantidades de etanol producidas durante la fermentación de KL contribuyen a sus propiedades organolépticas.

El KA tiene una viscosidad más baja y un aspecto semitranslúcido, con contenido adicional de verduras o frutas la bebida producida se vuelve menos translúcida (Randazzo et al., 2016). Dado que el contenido de etanol es bajo, normalmente, el sabor alcohólico es indetectable, contiene más dulzura, carbonatación y contenido de etanol que KL (Wang, 2020).

En el método tradicional de los dos tipos de bebidas, típicamente se utilizan 2–4% (m/v) de granos como inóculo y se incuban a 23°C durante 20–24 h hasta que el pH alcance 4.6. Los dos productos son el resultado de la fermentación de carbohidratos y la producción de bebidas únicas ( Yılmaz & Özpınar, 2019).

Aunque los dos tipos de granos de kéfir contienen principalmente bacterias del ácido láctico y levaduras que se describen a continuación, existen diferencias en las especies que afectan las características del producto final (Syrokou & Papadelli, 2019). Los dos tipos tienen relaciones simbióticas estables y forman una matriz física que mantiene unidos a los microorganismos.

**Tabla 10**

*Principales Grupos de Bacterias Presentes en el Kéfir.*

<b>Lactobacilos</b>	<i>Lactobacillus kefir</i>	Heterofermentativos, predominantes en la leche fermentada. Predomina con 60-80% en los gránulos.
	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	
	<i>Lactobacillus kefiranoferens</i>	
	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	
	<i>Lactobacillus kefirgranum</i>	
	<i>Lactobacillus casei</i>	
	<i>Lactobacillus parakefir</i>	
	<i>Lactobacillus paracasei</i>	
	<i>Lactobacillus brevis</i>	
	<i>Lactobacillus fructivorans</i>	
	<i>Lactobacillus plantarum</i>	
	<i>Lactobacillus hilgardii</i>	
	<i>Lactobacillus helveticus</i>	
	<i>Lactobacillus fermentum</i>	
	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	
<i>Lactobacillus viridescens</i>		
<i>Lactobacillus gasseri</i>		
<i>Lactobacillus crispatus</i>		
<b>Lactococos</b>	<i>Lactococcus lactis subsp. Lactis</i>	Acidificación es muy rápida
	<i>Lactococcus lactis subsp.</i>	
<b>Estreptococos</b>	<i>Streptococcus thermophilus</i>	Raramente encontrado
	<i>Streptococcus durans</i>	
<b>Leuconostoc</b>	<i>Leuconostoc durans</i>	Aporta sabor
<b>Enterococos</b>	<i>Enterococcus durans</i>	
<b>Bacterias ácido acéticas</b>	<i>Acetobacter sp.</i>	Mantiene la simbiosis
	<i>Acetobacter pasteurianus</i>	
<b>Otras bacterias</b>	<i>Bacillus spp</i>	
	<i>Bacillus subtilis</i>	
	<i>Pseudomonas spp</i>	

*Nota.* Tomado de (Farnworth, 2008).

**Tabla 11***Principales Levaduras encontrados en los Gránulos de Kéfir.*

<b>Levaduras en los gránulos de kéfir</b>		
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	<i>Candida friedrichii</i>	La presencia de levaduras en la fermentación de kéfir es importante para las destacar propiedades deseables como la producción de CO <sub>2</sub> y etanol.
<i>Kluyveromyces lactis</i>	<i>Candida pseudotropicalis</i>	
<i>Saccharomyces sp</i>	<i>Candida tenuis</i>	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Candida inconspicua</i>	
<i>Saccharomyces unisporus</i>	<i>Candida maris</i>	
<i>Saccharomyces exiguus</i>	<i>Candida holmii</i>	
<i>Saccharomyces turicensis</i>	<i>Candida lambica</i>	
<i>Saccharomyces delbrueckii</i>	<i>Candida tannotelerans</i>	
<i>Saccharomyces dairensis</i>	<i>Candida valida</i>	
<i>Saccharomyces humaticus</i>	<i>Candida albicans</i>	
<i>Torulaspota delbrueckii</i>	<i>Candida kefir</i>	
<i>Brettanomyces anomalus</i>	<i>Pichia fermentans</i>	
<i>Issatchenkia occidentalis</i>	<i>Kazachstania exigua</i>	

*Nota.* Tomado de (Liu, Wang, & Chen, 2006).

La simbiosis entre levaduras y bacterias que existen en el kéfir se han utilizado a través del tiempo bebidas funcionales, debido a esa relación simbiótica, los gránulos de kéfir se puede obtener una combinación de diferentes propiedades como las bacterias que contribuyen al sabor, aroma, textura y el valor nutricional de alimentos fermentados (Fiorda et al., 2017).

### **2.6.3. Kefirán**

El kefirán es un EPS clasificado como un heteropolisacárido que comprende glucosa y galactosa en altas cantidades, es realizado principalmente por *Lactobacillus kefiranofaciens* que se clasifica como un glucogalactano soluble en agua, por lo tanto, es factible para ser usado como aditivo (Otlés & Ozlem, 2003).

Según Acuña & Tejeda (2017), han demostrado que el kefirán mejora la viscosidad y las propiedades reológicas de los geles de leche ácidos, siendo capaz de formar geles con propiedades interesantes en bajas temperaturas. Por lo tanto, se observa su eficacia para formar gel evitando la pérdida de consistencia.

El kefirán produce aportes benéficos al ser humano, entre las más conocidas está la reducción de la presión arterial, aumento de la actividad peritoneal, la función antitumoral, acción antimicrobiana, el equilibrio del sistema inmune intestinal y protección de las células epiteliales (Otlés & Ozlem, 2003).

Respecto a las bebidas de kéfir han sido caracterizadas como multifuncionales, investigado en diversos estudios in vitro e in vivo, estos han demostrado la capacidad para promover la salud a través de la presencia de péptidos bioactivos. La microflora presente en el gránulo de kéfir incluye numerosas especies de BAL ( $10^8$ - $10^9$  UFC/g), bacterias acéticas ( $10^5$ - $10^6$  UFC/g) y levaduras ( $10^7$ -  $10^8$  UFC/g) (Simova et al., 2002). Además, se han realizados estudios para establecer la dosis mínima efectiva, estableciendo que el consumo de una dosis diaria de  $1 \times 10^{8-10}$  bacterias viables/ml (Leite & Gudiño, 2013).

#### 2.6.4. Composición Química y Nutricional del Kéfir

De acuerdo con los estudios de Delicia (2020), la composición del kéfir puede variar debido a que depende de la matriz utilizada si es leche o subproductos lácteos de vaca, cabra, oveja entre otras, así como también de los tipos de kéfir, tiempos de fermentación, proceso tecnológico de elaboración. En la tabla 12 se resume la composición química y nutricional aproximada del kéfir.

**Tabla 12**

*Composición Química y Nutricional del Kéfir.*

Componentes	Valores	Componentes	Valores
Grasa %	3.5	Alcohol etílico (g)	0.8
Proteína %	3.3	Ácido láctico (g)	0.9
Lactosa %	4.0	Colesterol (mg)	1
Agua %	87.5	Fosfatos (mg)	13
Calcio (g)	0.12	Vitamina A (mg)	0.06
Fósforo (g)	0.10	Vitamina B1	0.04
Magnesio (g)	12	Vitamina B2	0.17
Potasio (g)	0.15	Vitamina B6	0.05
Sodio (g)	0.05	Vitamina B12	0.5
Cloruro (g)	0.10	Vitamina C	1
Hierro (mg)	0.05	Vitamina D	0.08
Zinc (mg)	0.36	Vitamina E	0.11
Cobre (µg)	12	Niacina	0.09
Molibdeno (µg)	5.5	Caroteno	0.02
Manganeso (µg)	5	Leucina (g)	0.21
Triptofano (g)	0.05	Isoleucina (g)	0.17
Fenilalanina (g)	0.35	Treonina (g)	0.12
Tirosina (g)	0.34	Metionina (g)	0.27
Cisteina (g)	0.27	Licina Valina (g)	0.22

*Nota.* Tomado de (Delicia, 2020).

Según estudios de Abad et al. (2007), este polisacárido es idóneo para enriquecer las características viscosas de los geles que se forman en la leche siendo así un aditivo que llama mucho la atención para productos fermentados, tiene muchas propiedades en comparación con otros polisacáridos, algunas de ellas, antibacteriana, antitumoral y fúngica, también se ha encontrado la característica de protección del epitelio, antiinflamatorias y curativas con propiedades antioxidantes.

#### **2.6.5. Beneficios del Kéfir**

El kéfir tiene las proteínas completas que se digieren parcialmente y el cuerpo los utiliza fácilmente, la bebida elaborada a base de Kéfir de agua como de Kéfir de leche poseen una cantidad de bacterias probióticas por encima de la cantidad de bacterias probióticas establecidas por la Norma INEN 2395, (2011). La leche fermentada de Kéfir aporta beneficios a la salud vinculadas con los componentes de su estructura como en los estudios de Marshall & Cole, (2009).

El triptófano es uno de los aminoácidos esenciales en kéfir que son conocidos por su efecto relajante en el sistema nervioso, por otro lado, el calcio y el magnesio son abundante siendo importantes para una sistema nervioso sano, también es una buena fuente de fósforo que ayuda a utilizar carbohidratos, grasas y proteínas para el crecimiento y el mantenimiento de las células (Fiorda et al., 2017).

El ácido láctico presente en los fermentados también incide positivamente en la mejora de la digestión y la absorción de calcio en la persona que la consume. La presencia de calcio en las bebidas lácteas fermentadas es más abundante que de la leche sin fermentar, debido a que el pH ácido de las bebidas fermentadas se ioniza el calcio facilitando su absorción intestinal (Delicia, 2020).

Durante la fermentación los gránulos de kéfir reducen considerablemente los niveles de colesterol en la leche, disminuyéndolos entre un 42 y un 85 % tras 24 y 48 h de fermentación. Las enfermedades cardiovasculares son una de las principales causas de muerte en el mundo occidental, debido a los altos niveles de colesterol sérico un destacable factor de riesgo para la enfermedad (Varela, 2008).

En la investigación de Delicia (2020), al kéfir se le atribuyen propiedades antibacterianas, antimicrobianas y antifúngicas, demostrándose que posee una actividad antimicrobiana semejante a las de ampicilina, la azitromicina, la ceftriaxona, la oxacilina y el cetoconazol contra una gran variedad de especies patógenas bacterianas y fúngicas.

## **2.7. ALIMENTOS FUNCIONALES**

En la investigación de Morales (2014), el alimento puede ser considerado nutricional cuando está significativamente demostrado que afecta de manera benéfica a diferentes funciones del organismo como parte de sus efectos nutritivos de esa manera mejora el estado de bienestar y disminuye el riesgo de enfermedades.

Los alimentos funcionales son aquellos que contienen ingredientes que desempeñan una función específica en las actividades fisiológicas del organismo, más allá de su contenido nutrimental, las principales funciones son relacionadas con el óptimo crecimiento, función del sistema cardiovascular, antioxidantes, sistema gastrointestinal, entre otros (Guevara, 2017).

La cualidad de funcional se atribuye con la descripción bromatológica de "propiedad funcional", es decir la característica de un alimento, por las bondades de los componentes químicos y de sistemas fisicoquímicos de su entorno, sin referencia a su valor nutritivo (Araya, 2016).

### **2.7.1. Probióticos**

De acuerdo con la investigación de Torres & Rodríguez (2017), son alimentos que proveen microorganismos vivos benéficos que contienen características designadas a mantener o mejorar las bacterias esenciales para mantener o mejorar la microbiota normal del cuerpo, el cual estimula el crecimiento de otros microorganismos vivos. La incorporación de los probióticos en alimentos debe contar con características que garanticen su viabilidad en el producto, sin alterar las propiedades sensoriales y de calidad. Factores como el contenido de grasa, concentración, tipo de proteínas, azúcares y pH del producto pueden afectar el crecimiento y supervivencia de los probióticos en los alimentos (Guevara, 2017).

Según la investigación de González & Jiménez (2006), la capacidad de las BAL se ha utilizado ampliamente en la producción de leche y otros productos lácteos fermentados. Se reconocen en todo el mundo más de 20 especies diferentes de microorganismos probióticos en humanos (Tabla 13).

**Tabla 13**

*Especies de Microorganismos Usados como Probióticos en Humanos.*

<b>Microorganismos usados como probióticos</b>	
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Bifidobacterium bifidum</i>
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Bifidobacterium infantis</i>
<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Bifidobacterium adolescentes</i>
<i>Lactobacillus casei spp.</i>	<i>Bifidobacterium longum</i>
<i>Lactobacillus delbrueckii spp.</i>	<i>Bifidobacterium breve</i>
<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Streptococcus salivarius spp.</i>
<i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Saccharomyces boulardii</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>Lactococcus lactis spp.</i>	<i>Lactococcus lactis spp.</i>

*Nota.* Tomado de (González & Jiménez, 2006).

La flora intestinal humana, sirve para proteger al hospedero actuando como barrera contra enfermedades. Existe una relación directa entre la flora intestinal y el huésped de tal modo que es un proceso simbiótico y antagonista. Un desequilibrio en la flora intestinal puede incrementar la susceptibilidad a enfermedades infecciosas, inmunoinflamatorias, entre otras (Varela, 2008). Por lo tanto, el consumo adecuado de probióticos es esencial para mantener una vida saludable.

### **2.7.2. Prebióticos**

Según Dolores & Bazán (2002), los prebióticos son aquellos alimentos que contienen gran cantidad de fibra que ejercen como nutrientes para la microbiota del humano, se utilizan con la intención de mejorar el equilibrio de los microorganismos, la clave de un prebiótico es que no es digerible y beneficia la salud del individuo por su influencia positiva sobre la microbiota nativa. Es fundamental una dieta rica en fibra para poder obtener los prebióticos necesarios, las sustancias importantes consisten en polisacáridos y oligosacáridos excepto el almidón (Calvo & López, 2018).

Entre los prebióticos conocidos se encuentran: la oligofructosa, inulina, galacto oligosacáridos y lactulosa ésta se encuentra naturalmente en muchos alimentos como el trigo, cebolla, plátanos, miel, ajo entre otros Cortés et al., (2005).

### **2.7.3. Mecanismos de Acción de los Probióticos y Prebióticos**

Los mecanismos de acción por los cuales los microorganismos probióticos protegen al hospedero de desórdenes intestinales se deben a cambios que producen las bacterias probióticas en el sitio de colonización, en la interacción biológica se combinan formulaciones de la unión de prebióticos y probióticos permitiendo aprovechar más de los beneficios de esa simbiosis (Morales, 2014).

Según Serrano et al. (2006), la producción de sustancias antimicrobiana por las bacterias probióticas produce una gran variedad de sustancias inhibidoras con capacidad de evitar el crecimiento tanto de bacterias gram positivas como gram negativas por lo tanto mantienen una inhibición competitiva con bacterias patógenas en sitios de adhesión a células epiteliales del intestino humano.

La competencia por nutrientes en un mecanismo de acción de probióticos ya que pueden consumir los nutrientes utilizados por bacterianas patógenas. Investigaciones recientes sugieren que la estimulación de inmunidad, puede ser otro mecanismo de acción por el cual los probióticos podrían proteger de enfermedades intestinales, aumentando los niveles séricos de inmunoglobulinas o anticuerpos según (Abad et al., 2007). Los efectos benéficos de determinados microorganismos probióticos (Torres, 2017) son:

- Estimula el sistema inmunológico
- Estimula el sistema inmunológico
- Disminuye síntomas de la intolerancia a la lactosa
- Mantiene el equilibrio en la flora intestinal
- Reduce enzimas fecales relacionadas con el cáncer
- Reducción del síndrome de colon irritable
- Promueven la absorción de nutrientes
- Disminución del colesterol sérico

# CAPÍTULO III

## METODOLOGÍA

### 3.1 CARACTERIZACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

La presente investigación se desarrolló en el Laboratorio de Análisis Físicoquímicos y Microbiológicos de la Facultad de Ingenierías en Ciencias Agropecuarias y Ambientales (FICAYA) de la Universidad Técnica del Norte (UTN), ubicado en la ciudadela universitaria Avenida 17 de Julio y Gral. José María Córdova, Ibarra, Imbabura, Ecuador.

A continuación, se describen las características que posee el área de estudio mediante información del departamento de meteorología INAMHI.

**Tabla 14**

*Ubicación del Área de Estudios.*

Provincia	Imbabura
Cantón	Ibarra
Parroquia	El Sagrario
Altitud	2256m.s.n.m.
Latitud	00° 19' 47" N
Longitud	78° 07' 56" W
Humedad relativa promedio	73%
Precipitación	550.3 mm/año
Temperatura media	18.5°C

*Nota.* Tomado de (INAMHI, 2019).

### 3.2 MATERIALES Y EQUIPOS

Para la realización de este proyecto se hará referencia el lugar proveniente de las materias primas principales para el proceso de elaboración de la bebida funcional, de la misma manera se investigó la disponibilidad del material.

Una de las principales materias primas es la leche de cabra variedad saanen, fue adquirida en la ciudad de San Gabriel provincia del Carchi, se adquirió alrededor de 15 litros de leche para su posterior tratamiento y extracción del SL, se realizó este procedimiento en laboratorio debido a que el SL debe de cumplir con ciertos parámetros a controlar como la acidez, para que la investigación se realice con las características específicas adecuadas obteniendo así un producto con las cualidades reológicas, organolépticas y fisicoquímicas requeridas, es decir un producto de calidad.

El tomate de árbol (*Cypomandra betacea*) se adquirió del cantón Ibarra provincia de Imbabura. La muestra de fruta con promedio de 20 gramos, el fruto en estado de madurez fisiológica se seleccionó mediante requisitos como son: estar sanos, color característico, limpios y exentos de podredumbre, materia extraña visible, de plagas y daños causados por las mismas, que tenga la dureza adecuada, una vez realizada esta selección, se procede a la limpieza del fruto, pelado, posterior licuado y obtención del zumo.

La fresa (*Fragraria sp.*) se adquirió del cantón de Antonio Ante provincia de Imbabura. La fresa deberá estar en estado de madurez fisiológica, debe ser previamente seleccionada mediante requisitos como son: estar sanos, de color característico, limpios y exentos de podredumbre, materia extraña visible, de plagas y daños causados por las mismas, tenga la dureza adecuada, una vez realizada esta selección, se procedió a la limpieza del fruto con agua limpia y posterior licuado.

Fue necesario el uso de diferentes materiales además de los mencionados y equipos, que posibilitó el proceso de investigación, los cuales se señalan en la tabla a continuación.

### 3.2.1 Materia Prima e Insumos

**Tabla 15**

*Materia Prima, Equipos e Instrumentos.*

<b>Materia Prima</b>	<b>Reactivos</b>	<b>Equipos</b>	<b>Instrumentos</b>
Suero de leche de cabra (SL)	Metanol	Espectrofotómetro UV- visible	Recipientes de vidrio
Tomate de árbol ( <i>Cypomandra betacea</i> )	Ácido meta-fosfórico	Contador de colonias	Celdas plásticas de espectrofotometría
Fresas ( <i>Fragaria sp.</i> )	DPPH	Balanza gramera	Tubos de ensayo
Cultivo 1: kéfir de leche	Agua destilada	Autoclave semiautomático	Vaso de precipitación
Cultivo 2: kéfir de agua	Trolox	Estufa de secado	Frascos schott
Placas petrifilm BAL	Agua peptonada	Refractómetro	Micropipetas
Placas petrifilm levaduras	Cuajo líquido	Equipo de refrigeración	Probetas
		Vortex Mixer	Gradilla
		Termómetro higrómetro	Mechero
		Termómetro	Pera de succión
		Incubadora	Envases plásticos
		Medidor de pH digital	Balón aforado

## 3.3 METODOLOGÍA

### 3.3.1 Determinación de la Proporción Óptima de Suero de Leche de Cabra y Jugo de Frutos Andinos.

Para determinar las proporciones óptimas de la mezcla tanto del suero de leche, el jugo de frutas y la variedad de kéfir, se realizó la cuantificación de bacterias ácido-lácticas (BAL), levaduras, aceptabilidad del producto mediante cualidades organolépticas, medición de pH y sólidos solubles totales (°Brix) a cada uno de los tratamientos propuestos a continuación.

A continuación, se describe el diseño experimental utilizado para la optimización de las mezclas para la producción de la bebida funcional.

### 3.3.2 Factores en Estudio

Los factores en estudio para la elaboración de la bebida funcional se determinaron según conocimientos preliminares que están dados por las mezclas correspondientes, el factor jugo corresponde a 50% de fruta de tomate (*Cypomandra betacea*) y 50% de fruta de fresa (*Fragraria sp.*), siendo éstos los factores para elegir el mejor porcentaje en combinación con el SL de cabra.

**Tabla 16**

*FACTOR Mix 1 (Porcentaje de mezcla de suero de cabra(A) y jugo de frutos andinos(B)), FACTOR Mix 2 (Porcentajes de Kéfir de leche(C) y kéfir de agua(D)).*

FACTOR		FACTOR	
Mix 1		Mix 2	
A: Suero	B: Jugo	C: Kéfir de leche	D: Kéfir de agua
0-100%	0-100%	0-100%	0-100%

### 3.3.3 Tratamientos

En el diseño experimental aplicado en esta investigación se obtuvieron 23 tratamientos, con repeticiones en diferentes puntos, descritos a continuación.

**Tabla 17**

*Descripción de los tratamientos para la obtención de una bebida funcional.*

Bloques	Trat.	Mix: 1-1 A:Suero	Mix: 1-2 B:Jugo	Mix: 2-1 C: KL	Mix: 2-2 D: KA
Semana 1	1	0.77	0.23	0.77	0.23
Semana 1	2	0.00	1.00	0.50	0.50
Semana 1	3	0.53	0.47	0.55	0.45
Semana 1	4	0.93	0.08	0.26	0.74
Semana 1	5	0.00	1.00	0.50	0.50
Semana 1	6	0.50	0.50	0.00	1.00
Semana 1	7	0.50	0.50	0.00	1.00
Semana 1	8	0.00	1.00	1.00	0.00
Semana 2	9	0.50	0.50	1.00	0.00
Semana 2	10	1.00	0.00	0.51	0.49
Semana 2	11	1.00	0.00	0.51	0.49
Semana 2	12	0.55	0.45	0.46	0.54
Semana 2	13	0.26	0.74	0.21	0.79

Bloques	Trat.	Mix: 1-1 A: Suero	Mix: 1-2 B: Jugo	Mix: 2-1 C: KL	Mix: 2-2 D: KA
Semana 2	14	1.00	0.00	0.00	1.00
Semana 2	15	0.50	0.50	1.00	0.00
Semana 2	16	0.26	0.74	0.21	0.79
Semana 3	17	1.00	0.00	1.00	0.00
Semana 3	18	0.42	0.58	0.50	0.50
Semana 3	19	0.24	0.76	0.77	0.23
Semana 3	20	0.66	0.34	0.22	0.78
Semana 3	21	0.00	1.00	0.00	1.00
Semana 3	22	0.00	1.00	0.00	1.00
Semana 3	23	1.00	0.00	1.00	0.00

### 3.3.4 Diseño Experimental

La optimización de las condiciones para la obtención de la bebida funcional fermentada se realizó mediante combinaciones de dos factores: contenido de suero de leche, jugo de frutos andinos y la variedad de los gránulos de kéfir (Tabla 16), de esta manera encontrar la combinación adecuada en donde se maximice la población de bacterias ácido lácticas (BAL), levaduras y cualidades organolépticas de la bebida.

Para el análisis del diseño experimental se utilizó el programa estadístico *Design Expert 13.0 (Stat Easy Inc.)*, donde la cantidad de tratamientos aleatorizados fueron veintitrés (Tabla de tratamientos), utilizando la metodología de superficie de respuesta.

### 3.3.5 Características de la Unidad Experimental

Cada unidad experimental constará de una cantidad de mezcla de 400 mL de la bebida fermentada.

## 3.4 VARIABLES A EVALUAR

### 3.4.1 Variables Cuantitativas

La concentración de la población de bacterias ácido lácticas BAL y levaduras, así como el pH y sólidos solubles totales (°Brix), se evaluaron en todos los tratamientos con el fin de encontrar un modelo que pueda ser empleado para maximizar estas respuestas en la bebida y sea considerada funcional. Adicionalmente, el ácido láctico, lactosa, viscosidad, el contenido de alcohol etílico, proteína, grasa y capacidad antioxidante también son evaluadas en el

producto final de acuerdo con las óptimas características de deseabilidad y funcionalidad en la bebida. Previo al desarrollo de la bebida se evaluaron las características fisicoquímicas de la leche de cabra como del suero extraído. Las técnicas analíticas empleadas serán realizadas mediante las metodologías descritas a continuación:

#### ***3.4.1.1 Determinación de pH***

Mediante el uso de un pH-metro digital se tomó las medidas de pH a las mezclas antes de la inoculación del gránulo de kéfir y al terminar el tiempo de fermentación.

#### ***3.4.1.2 Determinación de •Brix***

Con la ayuda de un refractómetro se midió la cantidad de sólidos solubles presentes en la mezcla, procedimiento que se realizó tanto al inicio como también al finalizar la fermentación.

#### ***3.4.1.3 Determinación de ácido láctico***

La determinación de ácido láctico se lo realizó mediante la técnica analítica AOAC 947.5/Volumetría destinada para la cuantificación de acidez titulable (% (v/v) ácido láctico) en leche, el análisis fue realizado por el laboratorio (Multianalítica S.A.).

#### ***3.4.1.4 Determinación de grado alcohólico***

Para determinar el grado alcohólico (°GL) de las bebidas optimizadas se determinó mediante la técnica analítica USP 35<611>2012 (Cromatografía de gases-FID), el análisis fue realizado por el laboratorio (Multianalítica S.A.).

#### ***3.4.1.5 Determinación de viscosidad***

La viscosidad de las bebidas se cuantificó mediante la norma Covenin 2181 Brookfield/Viscosímetro capilar, sus resultados son expresados en centipoise por segundo (cPs), el análisis fue realizado por el laboratorio (Multianalítica S.A.).

#### ***3.4.1.6 Determinación de grasa***

El contenido de grasa de las bebidas optimizadas se determinó mediante el método AOAC 2003.06/Gravimetría, Soxhlet, método interno de (Multianalítica S.A.), los resultados son expresados en % de grasa.

#### ***3.4.1.7 Determinación de proteína***

Para determinar el contenido de proteína en las mejores bebidas se realizó mediante el método AOAC 2001.11/Volumetría, Kjeldahl, método interno de (Multianálityca S.A.), los valores obtenidos son expresados en (F: 6.25) %.

#### ***3.4.1.8 Determinación lactosa***

El contenido de lactosa se lo determinó por el método interno AOAC 982.14/HPLC-RI del laboratorio (Multianálityca S.A.), los resultados son expresados en % de lactosa.

#### ***3.4.1.9 Cuantificación de bacterias ácido lácticas y levaduras***

La población de bacterias ácido-lácticas (BAL) y levaduras se evaluaron tanto al inicio como al finalizar la fermentación, se determinó mediante conteo en placa con el uso de 1 ml de cada muestra llevando a diluciones (agua peptonada 0,1%) para el cultivo inicial de  $10^3$ - $10^5$ , para el final de la fermentación de  $10^5$ - $10^7$ , inoculando en el medio de cultivo Lactic Acid Bacteria (LAB) 3M petrifilm y en Yeast and Mold (YM) 3M petrifilm para levaduras. Todas las placas se incubaron a 28°C entre 48 y 72h, los resultados se expresaron en (UFC/ml).

#### ***3.4.1.10 Evaluación de la Capacidad Antioxidante***

La capacidad antioxidante se evaluó a las bebidas óptimas, se lo determinó mediante la técnica 2,2 Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) midiendo la absorbancia de éste radical disuelto en metanol al 80%, a una longitud de onda de 517 nm.

### **3.4.2 Variables Cualitativas**

Para el análisis sensorial de la bebida fermentada se utilizó parámetros establecidos como el uso de una ficha de degustación (Anexo 11) que están evaluadas dependiendo a una escala numérica ya estructurada, donde el valor inferior es 1 (en extremo desagradable) y el máximo de 7 (en extremo agradable). Los catadores evaluaron diferentes tratamientos identificando olores, colores, texturas y sabores elementales (salado, ácido, amargo y dulce) con el fin de obtener resultados de aceptabilidad. El análisis sensorial se realizó con un panel e 15 degustadores. Los datos obtenidos y registrados se evalúan a través de las pruebas no paramétricas de FRIEDMAN.

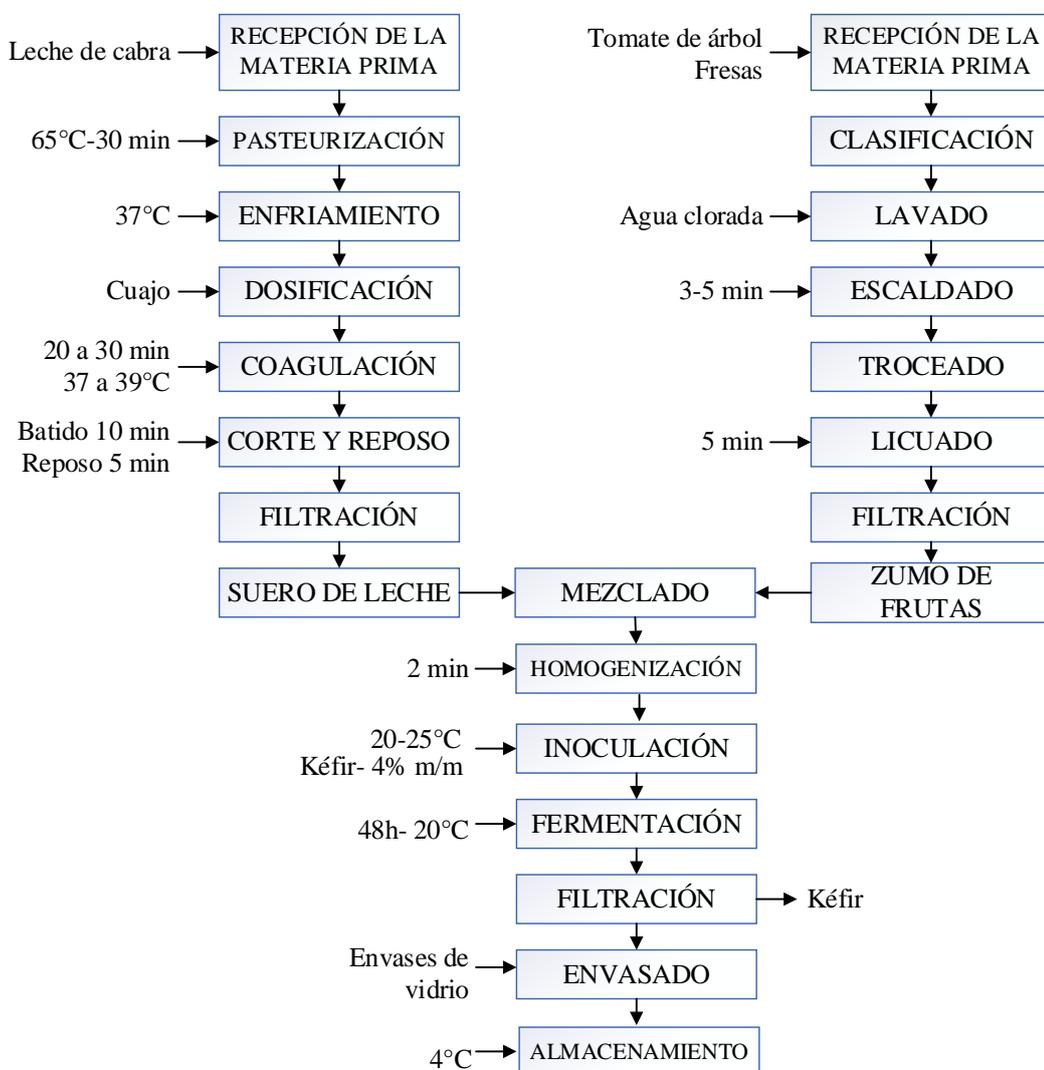
### 3.5 MÉTODO DE PROCESAMIENTO

El experimento consistió en varios procedimientos consecutivos, los cuales se encuentran especificados en el diagrama para la obtención de la bebida funcional.

#### 3.5.1 Diagrama de Flujo y Descripción de Procesos

**Figura 5**

*Diagrama de Flujo de la Fase Experimental.*



### 3.5.2 Detalle del Proceso Obtención de Suero de Leche

**Recepción:** La leche que entra a proceso se pesa, debe filtrarse a través de una tela fina, para eliminar cuerpos extraños. Se procedió con el control de calidad mediante análisis de acidez, pH, temperatura, densidad, punto crioscópico, sólidos totales, lactosa, proteína y grasa. Los equipos utilizados para los análisis es el Ekomilk y CryoSmart.

**Pasteurización:** Consiste en calentar la leche a una temperatura de 65°C por 30 min, para eliminar los microorganismos patógenos y mantener las propiedades nutricionales de la leche, para luego obtener un suero de buena calidad.

**Enfriamiento:** La leche pasteurizada se enfría a una temperatura de 37-39°C, pasando el recipiente por agua fría o con sacos con hielo.

**Adición del cuajo:** Se agrega el cuajo a la leche a una temperatura de 38-39°C. Se agita la leche durante un minuto para disolver y luego se deja en reposo para que se produzca el cuajado, lo cual toma alrededor de 30 min.

**Corte:** La masa cuajada se corta, con una lira o con cuchillos, en cuadros pequeños. Para mejorar la salida del suero debe batirse la cuajada durante 10 minutos y al finalizar este tiempo se deja reposar la masa durante 5 min.

**Desuerado:** Consiste en separar el suero dejándolo escurrir sin apretar a través de un lienzo. Se debe separar entre el 70 - 80% del suero, para evitar fragmentos pequeños de cuajada no se debe presionar.

### 3.5.3 Detalle del Proceso Obtención de Zumo de Frutas

**Recepción:** Las materias primas (tomate de árbol y fresa) deben ser verificadas para constatar que se encuentre en buen estado, sin alteraciones (mal olor, color, textura, pudrición).

**Clasificación:** Se realiza una selección del producto en función del color, tamaño y forma; y se clasifica en función del estado de madurez y los defectos presentes como golpes, manchas o magulladuras. Para la elaboración de zumos es necesarios que la fruta a usar esté en estado de madurez de consumo.

**Lavado:** Se lava la fruta eliminando las hojas de las fresas y residuos de suciedad presentes en los tomates de árbol; finalmente se escurre el agua del lavado.

**Escaldado:** Se realiza para inhibir la acción enzimática y eliminar la corteza de la fruta con mayor facilidad. Para el tomate de árbol y la fresa se realiza un escaldado sumergiendo en agua en ebullición de 3 a 5 min.

**Troceado:** Consiste en picar las fresas, a los tomates de árbol se les realiza un pelado para posteriormente licuarlos por separado.

**Licuada:** Para la obtención de la pulpa se debe de licuar de 3 a 5 min las fresas y los tomates de árbol, hasta obtener la consistencia adecuada.

**Filtración:** Se lleva a cabo con el fin de retirar las partículas sólidas más grandes de la pulpa que consiste en semillas, fibra y piel.

#### **3.5.4 Detalle del Proceso de Obtención de Bebida Fermentada**

**Mezclado:** Se preparan las mezclas de acuerdo con la formulación de cada tratamiento y puestas en envases de vidrio, las soluciones a verter son: el suero de leche y jugo de frutos andinos (Tabla 16).

**Homogenización:** Los 400 ml que compone cada mezcla se homogenizan con un utensilio hasta obtener una bebida uniforme.

**Inoculación:** Para la inoculación de los dos tipos de kéfir se tomó 4% (m/m) del cultivo (gránulos de kéfir de agua y leche) y se realizó la inoculación directa en la bebida a una temperatura de entre 20 y 25°C.

**Fermentación:** La fermentación de cada mezcla se llevó a cabo en envases de vidrio con tapas sin sellar a una temperatura ambiente estable de 20°C, las mezclas son incubadas por 48 h realizando la toma de datos de pH y sólidos totales (°Brix), acorde al diseño propuesto.

**Filtración:** La filtración se la realiza mediante el uso de un tamiz con el fin de retirar la mezcla de gránulos de kéfir de agua y leche de la bebida fermentada.

**Envasado:** Cada bebida obtenida se almacena alrededor de 4°C, para ser usadas y enviadas al momento de realizar las técnicas analíticas.

## CAPITULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. DETERMINACIÓN DE LA PROPORCIÓN ÓPTIMA DE SUERO DE LECHE DE CABRA Y JUGO DE FRUTOS ANDINOS.

Los valores reales (Tabla 18) obtenidos en cada tratamiento fueron ajustados a modelos sugeridos. Para la concentración de bacterias ácido lácticas se usó el modelo cúbico-lineal, mientras que para la población de levaduras y aceptabilidad se utilizó el modelo cúbico-cuadrático, la variable de respuesta fue transformada a logaritmo natural para conservar la ortogonalidad de los modelos.

**Tabla 18**

*Resultados reales obtenidos de los tratamientos propuestos.*

		Mix 1-1	Mix 1-2	Mix 2-1	Mix 2-2	Respuesta 1	Respuesta 2	Respuesta 3
Bloque	Trat.	A:Suero	B:Jugo	C:KL	D:KA	BAL UFC/mL	Levadura UFC/mL	Aceptabilidad
1	1	0.77	0.23	0.77	0.23	$7.34 \cdot 10^6$	$3.60 \cdot 10^7$	5.25
1	2	0.00	1.00	0.50	0.50	$9.25 \cdot 10^7$	$4.04 \cdot 10^7$	5.00
1	3	0.53	0.47	0.55	0.45	$5.13 \cdot 10^7$	$2.96 \cdot 10^7$	6.00
1	4	0.93	0.08	0.26	0.74	$3.94 \cdot 10^7$	$3.73 \cdot 10^7$	5.50
1	5	0.00	1.00	0.50	0.50	$1.66 \cdot 10^7$	$4.60 \cdot 10^7$	4.75
1	6	0.50	0.50	0.00	1.00	$2.30 \cdot 10^7$	$4.28 \cdot 10^7$	6.25
1	7	0.50	0.50	0.00	1.00	$4.90 \cdot 10^7$	$5.92 \cdot 10^7$	6.50
1	8	0.00	1.00	1.00	0.00	$1.80 \cdot 10^7$	$3.57 \cdot 10^7$	5.75
2	9	0.50	0.50	1.00	0.00	$3.67 \cdot 10^8$	$2.38 \cdot 10^9$	6.50
2	10	1.00	0.00	0.51	0.49	$1.49 \cdot 10^9$	$4.97 \cdot 10^9$	4.75
2	11	1.00	0.00	0.51	0.49	$1.74 \cdot 10^9$	$4.88 \cdot 10^9$	4.25
2	12	0.55	0.45	0.46	0.54	$4.85 \cdot 10^8$	$2.16 \cdot 10^9$	5.75
2	13	0.26	0.74	0.21	0.79	$2.72 \cdot 10^8$	$2.70 \cdot 10^9$	5.75
2	14	1.00	0.00	0.00	1.00	$7.67 \cdot 10^8$	$1.91 \cdot 10^9$	5.00
2	15	0.50	0.50	1.00	0.00	$8.87 \cdot 10^8$	$3.61 \cdot 10^9$	6.75
2	16	0.26	0.74	0.21	0.79	$7.50 \cdot 10^8$	$1.96 \cdot 10^9$	5.25
3	17	1.00	0.00	1.00	0.00	$5.68 \cdot 10^8$	$7.27 \cdot 10^8$	5.00
3	18	0.42	0.58	0.50	0.50	$8.86 \cdot 10^7$	$5.09 \cdot 10^8$	6.50

Bloque	Trat.	A:Suero	B:Jugo	C:KL	D:KA	BAL (UFC/mL)	Levadura (UFC/mL)	Aceptabili.
3	19	0.24	0.76	0.77	0.23	6.18·10 <sup>8</sup>	1.20·10 <sup>9</sup>	5.25
3	20	0.66	0.34	0.22	0.78	6.49·10 <sup>8</sup>	5.87·10 <sup>8</sup>	5.50
3	21	0.00	1.00	0.00	1.00	6.09·10 <sup>8</sup>	2.15·10 <sup>9</sup>	6.50
3	22	0.00	1.00	0.00	1.00	5.89·10 <sup>8</sup>	2.08·10 <sup>9</sup>	6.25
3	23	1.00	0.00	1.00	0.00	5.88·10 <sup>8</sup>	6.97·10 <sup>8</sup>	5.00
4	24	0.71	0.29	0.00	1.00	1.50·10 <sup>9</sup>	3.86·10 <sup>8</sup>	6.50
4	25	0.00	1.00	0.00	1.00	4.49·10 <sup>8</sup>	8.20·10 <sup>8</sup>	6.30
4	26	0.21	0.79	0.75	0.25	3.56·10 <sup>8</sup>	5.69·10 <sup>8</sup>	6.10
4	27	0.99	0.01	1.00	0.00	5.52·10 <sup>8</sup>	3.79·10 <sup>8</sup>	6.20
4	28	0.52	0.48	1.00	0.00	7.58·10 <sup>7</sup>	4.46·10 <sup>8</sup>	5.70
4	29	0.00	1.00	1.00	0.00	5.95·10 <sup>7</sup>	4.51·10 <sup>8</sup>	5.90
4	30	0.71	0.29	0.00	1.00	1.38·10 <sup>9</sup>	4.25·10 <sup>8</sup>	6.75
4	31	0.00	1.00	1.00	0.00	1.19·10 <sup>8</sup>	4.82·10 <sup>8</sup>	6.30
4	32	0.52	0.48	1.00	0.00	1.16·10 <sup>8</sup>	3.66·10 <sup>8</sup>	6.30
4	33	0.99	0.01	1.00	0.00	4.63·10 <sup>8</sup>	2.89·10 <sup>8</sup>	6.15
4	34	0.21	0.79	0.75	0.25	3.76·10 <sup>8</sup>	6.18·10 <sup>8</sup>	5.70
4	35	0.00	1.00	0.00	1.00	4.09·10 <sup>8</sup>	8.61·10 <sup>8</sup>	6.40
4	36	0.71	0.29	0.00	1.00	1.47·10 <sup>9</sup>	4.05·10 <sup>8</sup>	6.80
4	37	0.00	1.00	0.00	1.00	4.79·10 <sup>8</sup>	8.40·10 <sup>8</sup>	6.10
4	38	0.21	0.79	0.75	0.25	4.27·10 <sup>8</sup>	6.38·10 <sup>8</sup>	6.70
4	39	0.99	0.01	1.00	0.00	4.93·10 <sup>8</sup>	4.09·10 <sup>8</sup>	6.50
4	40	0.52	0.48	1.00	0.00	9.54·10 <sup>7</sup>	4.06·10 <sup>8</sup>	5.60
4	41	0.00	1.00	1.00	0.00	8.96·10 <sup>7</sup>	3.63·10 <sup>8</sup>	5.80

#### 4.1.1. Caracterización de Materia Prima

Previo al desarrollo de las bebidas se realizaron análisis fisicoquímicos a la leche de cabra y al suero lácteo extraído, se los realizó de manera previa a la fermentación de cada bloque, en las tablas 20, 21, 22 se observan las características.

**Tabla 19**

*Análisis Fisico-químicos de Leche y Suero de Cabra*

Parámetros	Leche de cabra	Suero Lácteo
Acidez (°D)	0.15 ± 0.01	0.07 ± 0.01
Densidad (g/cm <sup>3</sup> )	1.035 ± 0.079	1.023 ± 0.085
Grasa (% (m/m))	3.87 ± 0.05	0.67 ± 0.07
Lactosa (%)	4.52 ± 0.02	4.38 ± 0.08
Proteína (%)	2.95 ± 0.01	0.97 ± 0.03
Sólidos no grasos (% (m/m))	8.31 ± 0.04	6.88 ± 0.04
pH	6.67 ± 0.05	6.47 ± 0.06
Rendimiento de SL (%)		59.0 ± 0.7

**Tabla 20**

*Caracterización de la mezcla 50:50 de jugo de fresa y jugo de tomate.*

<b>Parámetros</b>	<b>Valor Promedio</b>
Sólidos Solubles totales (°Brix)	$7.95 \pm 0.06$
pH	$4.49 \pm 0.04$

Se tomaron datos de 6 repeticiones tanto para la leche de cabra como del suero lácteo, se las realizó previamente a la elaboración de la bebida en cada bloque establecido. En la tabla 19 se pueden observar los valores de pH obtenidos en la leche de cabra fue de  $6.67 \pm 0.06$ , este dato se encuentra dentro del rango establecido por la normativa (NTE INEN 2624) que establece un rango de 6.4-6.8, un rango mayor indicaría una posible infección mamaria en las cabras y un rango menor presencia de calostro en ambos casos la leche sería rechazada por lo tanto, este es un punto importante a controlar.

La acidez arrojó un valor promedio de  $0.15 \pm 0.01$  % de ácido láctico, este valor se encuentra dentro de lo establecido en la norma (NTE INEN 2623) que indican un valor de 0.11-0.18% de ácido láctico para leche cruda de cabra, valores menores a ese rango podría ser un indicio de mastitis en las cabras y datos superiores a 0.18% es un indicador de contaminación microbiana, en esos casos de incumplimiento la leche de cabra es rechazada (Pérez & González, 2016).

Con respecto a los análisis de densidad, grasa, lactosa, proteína, sólidos no grasos y punto crioscópico cumplen con lo establecido en la norma (NTE INEN 2624) para leche cruda de cabra, por lo tanto los valores obtenidos mediante las pruebas de plataforma, indican que la leche de cabra de la que se va a obtener una de las materias primas para investigación, es leche fresca que está en excelente estado. En la tabla 19 indica los valores obtenidos de las pruebas de plataforma para el suero lácteo de cabra. El pH promedio obtenido fue de  $6.47 \pm 0.06$ , éste valor es similar al reportado en la investigación de Lomas, (2005) para el SL de cabra.

El dato promedio obtenido para acidez fue de  $0.070 \pm 0.008\%$  de ácido láctico, el valor comparado con el de la leche de cabra cruda  $0.150 \pm 0.011\%$  de ácido láctico es 41% menor, el ácido láctico presente en la leche de cabra cruda proviene de las proteínas y/o péptidos presentes, por lo que en el momento de la coagulación, el suero de leche pierde el 74% de las proteínas totales que son retenidas junto con la grasa en el queso fresco, en el suero queda un porcentaje menor de proteínas que le otorgan al suero la acidez reportada en la investigación (Lomas, 2005), además cumple con los lineamientos que establece la norma (NTE INEN 2609) que se encuentran dentro del rango para calificarlo como suero dulce.

El porcentaje promedio de proteínas es de  $0.97 \pm 0.03\%$  el resultado obtenido se encuentra dentro del rango de la literatura 0.8-1%. Debido a que la fracción proteica del suero de leche de cabra está compuesta por lactoalbúmina y lactoglobulina se deben utilizar temperaturas inferiores a  $70^{\circ}\text{C}$  para evitar su desnaturalización ya que estas a altas temperaturas pueden causar desestabilización y floculación de las proteínas solubles presentes en la leche (Carvajal, 2020).

El dato promedio de grasa fue de  $0.67 \pm 0.07\%$  este dato se encuentra dentro de lo establecido en la norma (NTE INEN 2609) indicados para el suero lácteo de vaca que indica un promedio de 0.2-0.7%. Por lo general la cantidad de grasa es baja debido a que el mayor porcentaje se queda al momento de la coagulación retenidas en la cuajada junto con las caseínas.

Los valores obtenidos de lactosa para el suero de leche de cabra fue de  $4.38\% \pm 0.084$ , los datos de la leche de cabra fueron de  $4.52 \pm 0.02\%$  de lactosa, dentro del rango presentado en el (CODEX STAN 289) para SL de cabra en polvo. Los valores de lactosa en la leche y en el suero de cabra son muy similares, difieren en un 0.3%, lo que indica que este componente soluble en la leche es conservado en su gran mayoría en el suero, este valor también indica que el suero obtenido no ha sido utilizado por ningún microorganismo, garantizando su inocuidad.

La extracción del suero lácteo se lo realizó mediante una coagulación enzimática de las caseínas obteniendo de esa manera un queso fresco y un suero de leche categorizado como dulce, el volumen promedio extraído de SL de cabra fue de  $590.0 \pm 0.7$  mL/L de leche (Tabla 19). Las características del SL obtenido fueron: color amarillo pálido, turbio, pequeñas partículas en suspensión, olor suave agradable y ausencia del olor característico a la leche de cabra.

Teóricamente se extraen 900 mL de SL por cada litro de leche de cabra, obteniendo de esa manera un queso con un peso aproximado de 100 g (Carvajal, 2020). En el proceso se recolectó el 59% de la cantidad total de la leche debido a que al momento de verter la cuajada en la tela lienzo no se realizó mucha presión y de esa manera evitar que los restos de cuajada se filtraran para extraer el suero lo más limpio posible, además de evitar la manipulación prolongada donde pudiera haber riesgos microbiológicos.

Los datos del pH y sólidos solubles ( $^{\circ}$ Brix) tomados a la mezcla de jugo de tomate con fresa (Tabla 20), se tomaron datos de 6 repeticiones realizados previamente a la elaboración de la bebida en cada bloque establecido. Los sólidos solubles en la mezcla fueron de  $7.95 \pm 0.06$ , los datos encontrado en (NTE INEN 2337) fueron de 6 para fresa (*Fragaria* sp.) y para el tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*) de 8, según estos valores se encontrarían dentro de los parámetros establecidos para jugos y pulpas.

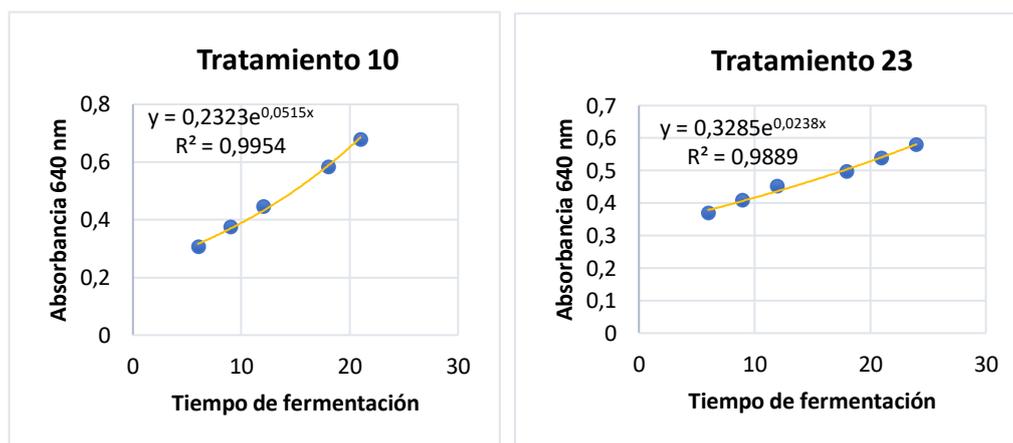
El pH obtenido fue de  $4.49 \pm 0.04$  mientras que la norma (NTE INEN 2337) el nivel máximo de pH no deberá exceder el 4.5%, por lo tanto la mezcla de estas pulpas cumplen con los requerimientos establecidos. En la figura 5, se puede ver el diagrama de proceso con todas las condiciones que se utilizó para la extracción de las materias primas y el proceso de obtención de la bebida final.

#### 4.1.2. Evaluación del tiempo de fermentación para determinar la productividad de las mezclas.

Para conocer la eficacia de las mezclas (Mix1: Jugo-Suero) (Mix2: kéfir de leche-Kéfir de agua) utilizadas en cada tratamiento, se realizó el análisis del tiempo de fermentación, para determinar cuál de las bebidas fermenta en el tiempo óptimo posible, se realizó a través de espectrofotometría utilizando una longitud de onda de 640 nm, con la toma de datos cada 3 h hasta llegar a las 48 h, este proceso se lo realizó de manera intermitente para obtener todos los datos.

**Figura 6**

*Tiempos mínimos de fermentación obtenidos, mediante el análisis de los puntos en la fase de crecimiento exponencial.*



En la figura 6 se presentan los 2 tratamientos que tuvieron su fermentación en menor tiempo posible, el tratamiento 10 se fermentó en 21 h obteniendo su lectura máxima Abs. 0.678. En la línea de tendencia se graficó tomando los puntos de la zona de interés, donde se presenta la fase de crecimiento exponencial, omitiéndose la fase estacionaria. La línea de tendencia exponencial se ajustó de manera correcta a los datos, obteniendo un coeficiente de regresión  $R^2=0.9954$ .

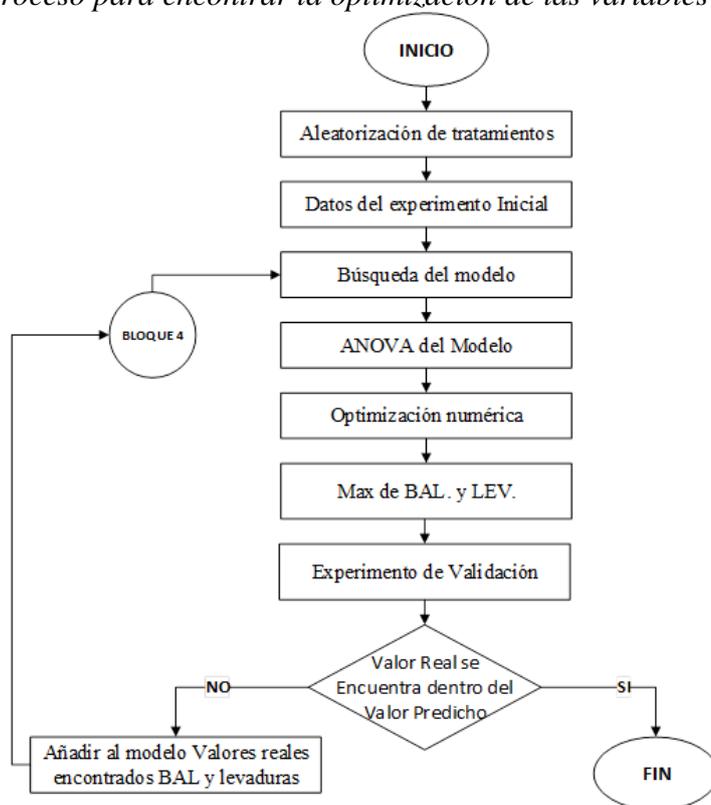
En el tratamiento 23 se llegó a la máxima lectura de Abs. 0.581 en un tiempo de estimado de 24 h, se obtuvo un coeficiente de regresión de  $R^2 = 0.9954$  es decir que la línea de tendencia tiene un ajuste cuadrático bueno. Los tratamientos restantes presentaron mayor tiempo de fermentación (Anexo 10) para su posterior estudio ya obtenidos los datos de optimización.

## 4.2. DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS ÓPTIMOS PARA LA OBTENCIÓN DEL CULTIVO LÁCTICO.

Para la determinación de los parámetros óptimos (leche-jugo y KA-KL) y maximización en la población de los cultivos requeridos (BAL y levaduras), se utilizó el programa Design Expert 13.0, proporcionando los datos del modelo ANOVA y las posibles combinaciones que cumplan con la optimización de resultados. En la figura 7 se detalla el proceso para la obtención del modelo.

**Figura 7**

*Proceso para encontrar la optimización de las variables respuesta.*



### 4.2.1. Análisis de Varianza (ANOVA) de las Variables de Respuesta para la Optimización de las Mezclas en la Bebida.

En la tabla 21 se muestra el análisis de varianza ANOVA utilizado para los modelos sugeridos, permitió determinar si el modelo estadístico sugerido es viable para determinar los puntos que permitan obtener maximización de las variables.

**Tabla 21**

*Análisis de varianza (ANOVA) para los modelos de BAL, Levaduras y Aceptabilidad.*

Fuente	gl	BAL(UFC/ml)				LEVADURAS(UFC/ml)				ACEPTABILIDAD			
		Suma de cuadrados	Cuadrados Medios	Valor-F	Valor-p	Suma de cuadrados	Cuadrados Medios	Valor-F	Valor-p	Suma de cuadrados	Cuadrados Medios	Valor-F	Valor-p
<b>Modelo</b>	7	4.41	0.6296	19.37	< 0.0001	0.8947	0.0994	31.42	< 0.0001	7.97	0.7969	4.41	0.001
<b>ABC</b>	1	0.3825	0.3825	11.76	0.0018	0.0002	0.0002	0.0501	0.8245	0.1516	0.1516	0.8392	0.3677
<b>ABD</b>	1	0.0096	0.0096	0.294	0.5917	0.0107	0.0107	3.37	0.0771	0.3437	0.3437	1.9	0.1791
<b>ABC(A-B)</b>	1	1.83	1.83	56.42	< 0.0001	-	-	-	-	0.7336	0.7336	4.06	0.0539
<b>ABD(A-B)</b>	1	1.42	1.42	43.63	< 0.0001	-	-	-	-	0.9728	0.9728	5.38	0.0281
<b>ACD</b>	-	-	-	-	-	0.1306	0.1306	41.29	< 0.0001	1.24	1.24	6.87	0.0142
<b>ABCD</b>	-	-	-	-	-	0.1211	0.1211	38.29	< 0.0001	1.05	1.05	5.8	0.0232
<b>BCD(C-D)</b>	-	-	-	-	-	0.2033	0.2033	64.24	< 0.0001	-	-	-	-
<b>BCD</b>	-	-	-	-	-	0.0101	0.0101	3.18	0.0852	-	-	-	-
<b>Residual</b>	30	0.9753	0.0325	-	-	0.0886	0.0032	-	-	4.88	0.1807	-	-
<b>Falta de Aj.</b>	11	0.3977	0.0362	1.19	0.3563	0.0234	0.0026	0.7581	0.6546	3.4	0.4249	5.46	0.0011
<b>Error Puro</b>	19	0.5776	0.0304	-	-	0.0652	0.0034	-	-	1.48	0.0778	-	-
<b>Correl. Total</b>	40	14.77	-	-	-	15.75	-	-	-	16.69	-	-	-
<b>R<sup>2</sup></b>	0.8188	-	-	-	-	0.9099	-	-	-	0.7203	-	-	-
<b>R<sup>2</sup> Ajustado</b>	0.7765	-	-	-	-	0.8809	-	-	-	0.6797	-	-	-
<b>C.V.%</b>	2.15	-	-	-	-	0.6483	-	-	-	7.24	-	-	-
<b>Prec. Adec.</b>	23.8794	-	-	-	-	71.2361	-	-	-	8.6247	-	-	-

En el análisis de varianza se determinan las concentraciones mediante el valor-p, obteniendo así valores estimados para las concentraciones de poblaciones de BAL, población de levaduras y la aceptabilidad de la bebida fermentada. Los resultados de los modelos utilizados muestran un valor-p  $< 0.05$ . Determinando que los modelos son los correctos para utilizarlos en la optimización de las variables.

Al realizar el análisis de varianza (ANOVA) en el modelo para la concentración de BAL que se muestran en la tabla 21, indican el efecto cúbico lineal del SL (A), el contenido de jugo (B) y el gránulo de kéfir de leche (C) obteniendo un resultado estadísticamente significativo. La interacción lineal (ABD) con el kéfir de agua (D) no muestran significancia ya que su valor está por encima del intervalo de confianza.

En el modelo cuadrático cúbico para la concentración de población en levaduras, la interacción (ABC) se encuentra por encima del intervalo de confianza con un p-valor  $> 0.05$ . Por otro lado, las interacciones (ABD), (ACD), (BCD) obtienen de relación un p-valor  $< 0.05$  resultando estadísticamente significativo.

Mediante el análisis de los términos del modelo cúbico cuadrático de la respuesta Aceptabilidad, SL (A), el contenido de jugo(B), el kéfir de leche (C) y el kéfir de agua (D), en las interacciones (ABC) y (ABD) no muestran significancia, mientras que (ACD) y (ABCD) fueron significativos, presentando un valor de p-valor  $< 0,05$ .

En el ANOVA de las variables respuesta de los modelos, muestran que en las interacciones que contenían SL y jugo su factor no era significativo. Sin embargo, si muestran significancia con los factores combinados con kéfir de leche y kéfir de agua. Por lo que, en la investigación se considera que las mezclas entre suero y jugo no son factores que muestren mayor significancia en el proceso de obtención de una bebida funcional. En el caso de las combinaciones de los gránulos en todos los modelos predichos se consideró como modelos significativos éstos generados por las interacciones. Es decir que en la experimentación tiene mayor relevancia el tipo de gránulo que el sustrato utilizado.

Con respecto al coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 0.8188, 0.9099, 0.7203 para para BAL, levaduras y aceptabilidad, respectivamente, muestran que los modelos usados para la optimización son satisfactorios. De acuerdo con Monteros (2007) si el modelo no muestra un mínimo de ( $R^2$ ) 0.70 la predicción no es eficiente, por lo tanto, no se recomienda utilizarla siendo su predicción baja.

Además, en referencia a la prueba de falta de ajuste presentada en la tabla 21, se puede determinar que los modelos utilizados para determinar la concentración de BAL, levaduras y deseabilidad presentan p-valor de 0.3563, 0.7203, 0.0811 respectivamente. Representando que los modelos son ( $p < 0.05$ ) y no tienen significancia estadística, de tal manera se confirman las capacidades predictivas de los modelos utilizados para determinar estas variables respuesta, pudiendo así maximizar los puntos requeridos para la elaboración de la bebida funcional.

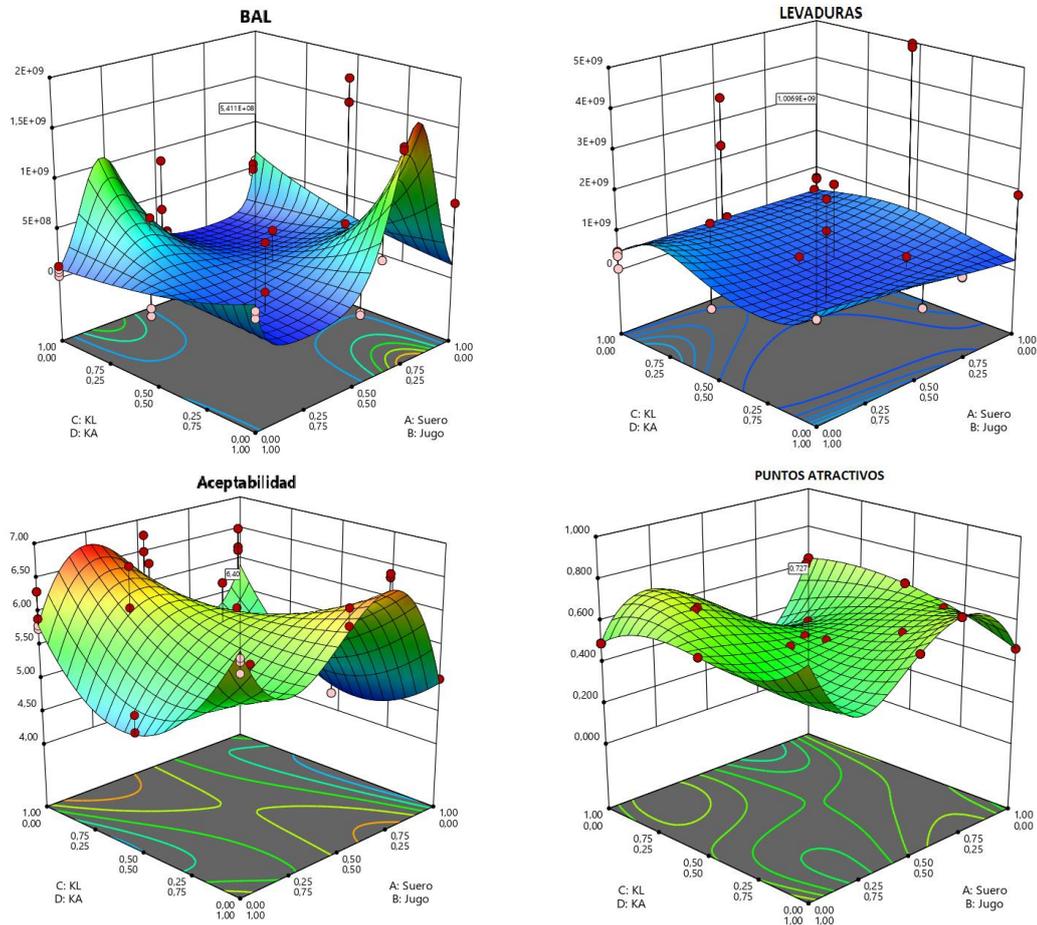
No obstante, la prueba de falta de ajuste para el modelo de aceptabilidad del producto fue de p-valor = 0.011, mostrando una significancia estadística alta con relación al ajuste por lo tanto tiene gran tendencia a tener errores. El valor significativo de ajuste en esta variable respuesta, no significa que en las demás pruebas que demuestran que el modelo es viable vaya a caer en error. Sin embargo, no se puede descartar que el modelo utilizado para esta respuesta (aceptabilidad) no sea el más adecuado teniendo una probabilidad de fallar, pero poniendo en práctica el modelo no es necesariamente inválido o rechazado (Monteros, 2007).

#### **4.2.2. Análisis Gráfico de las Variables Respuesta en tres Dimensiones**

En la Figura 8, se representan en las gráficas en 3D los modelos usados para cada variable, mostrando el efecto combinado del suero de leche (A), Jugo (B), Kéfir de leche (C), Kéfir de agua (D). En donde se pueden visualizar las respuestas y puntos de optimización.

**Figura 8**

*Gráficos de superficie de respuesta con las variables combinadas Suero de leche de cabra(A), Jugo(B), Kéfir de leche(C), kéfir de agua(D), para optimización.*



En la figura de BAL representa el comportamiento en el crecimiento de bacterias ácido lácticas, mediante la combinación de suero, jugo, kéfir de leche y kéfir de agua con sus representaciones (A, B, C, D). Se observa que existe un máximo de crecimiento alrededor de 0.75 de suero y 0.25 de jugo fermentado con el 1.0 de Kéfir de agua, con un valor que se encuentra alrededor de  $1.5035 \cdot 10^9$ . Entonces, deben de tener en cuenta estos puntos de auge.

En la evaluación gráfica de las levaduras se observa una elevación de crecimiento para las mezclas entre 1.0 de Jugo (B) con 1.0 de kéfir de agua (D), alcanzando un valor máximo de alrededor de  $5 \cdot 10^9$ , también se observa que los mayores valores reportados de levaduras se dan por el uso del kéfir de agua sin tener combinaciones con el kéfir de leche.

Para la gráfica de la aceptabilidad se puede deducir que los valores se encuentran parcialmente divididos, no existe una tendencia clara de mezclas para encontrar el modelo óptimo, obteniendo variaciones no significativas entre ellas, no obstante, se tomó su mayor puntuación encontradas en las mezclas  $A = 0.50$ ,  $B = 0.50$ ,  $C = 1.00$  y  $D = 0$  con una calificación de 6.75.

Un modelo tentativo para alcanzar un máximo de cualidades se puede observar en la figura puntos atractivos, que muestran diferentes puntos de mezcla próximos para realizar en el experimento de optimización y validación de resultados, los puntos más cercanos a su máximo serán priorizados.

En la tabla 22 se muestran los intervalos de confianza altos y bajos ( $p < 0.05$ ), coeficientes de regresión y el % de error estándar de los modelos matemáticos aplicados y codificados en cada variable respuesta, mostrando que los valores se han mantenido dentro de los parámetros de los rangos establecidos en cada modelo.

En la figura 9 se presentan los valores del error estándar de cada modelo utilizado, observándose una distribución normal manteniéndose una varianza homogénea, concordando con el ajuste de los modelos y el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) representados en la tabla 23, por lo que se puede asegurar que los modelos utilizados son los óptimos para la experimentación.

**Tabla 22**

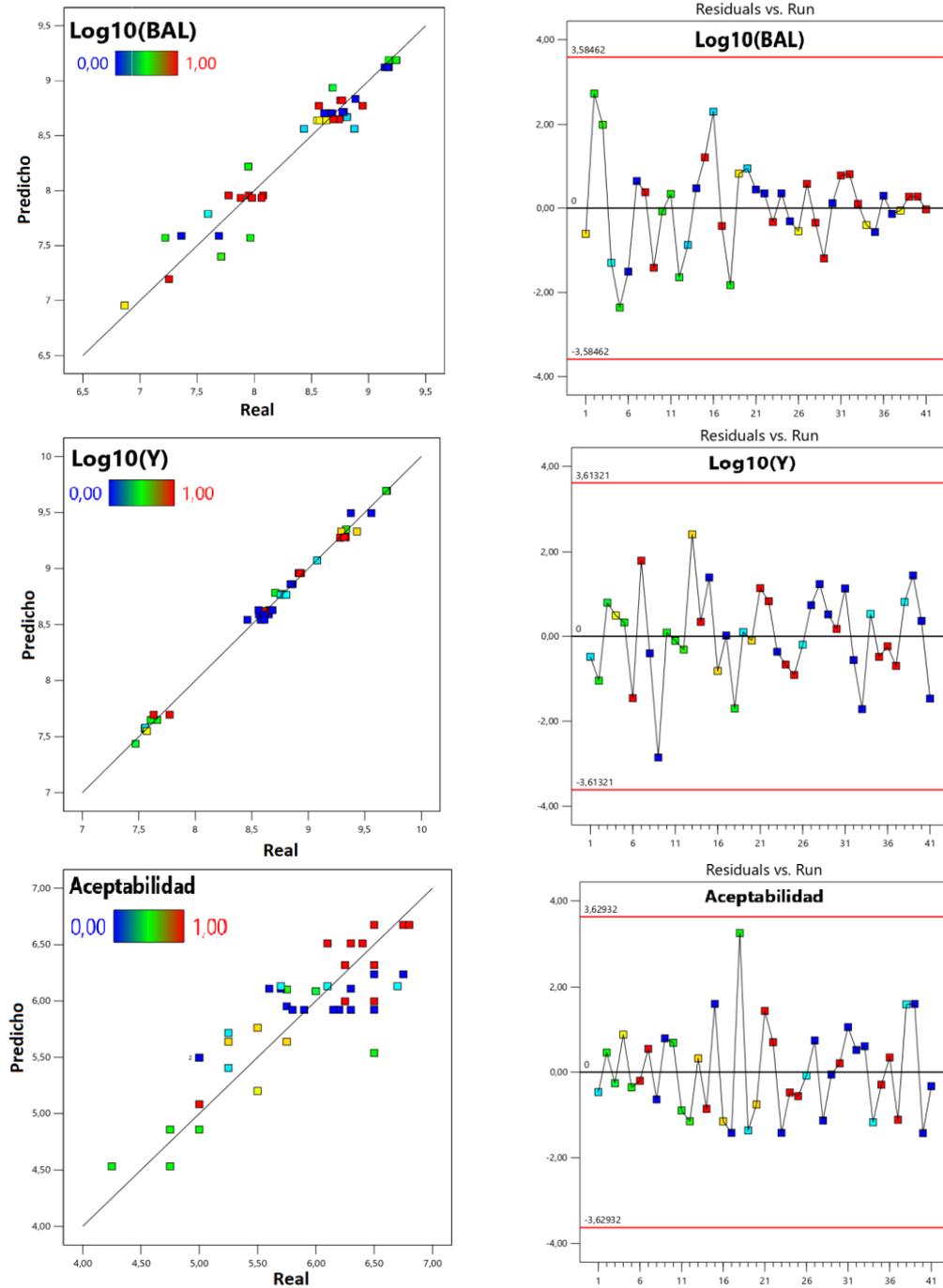
*Coefficientes de regresión, intervalos de confianza ( $p < 0.05$ ) y error estándar.*

Factor	BAL(UFC/ml)				LEVADURAS(UFC/ml)				ACEPTABILIDAD			
	Coefficiente Estimado	% Error Estándar	95% IC Bajo	95% IC Alto	Coefficiente Estimado	% Error Estándar	95% IC Bajo	95% IC Alto	Coefficiente Estimado	% Error Estándar	95% IC Bajo	95% IC Alto
Semana 1	-0.7537	-	-	-	-1.1	-	-	-	0.1448	-	-	-
Semana 2	0.7272	-	-	-	0.8613	-	-	-	0.1423	-	-	-
Semana 3	0.0198	-	-	-	0.2787	-	-	-	-0.4005	-	-	-
Semana 4	0.0066	-	-	-	-0.0405	-	-	-	0.1135	-	-	-
ABC	-1.36	0.3973	-2.17	-0.5513	0.0307	0.1373	-0.2505	0.3119	0.9393	1.03	-1.16	3.04
ABD	-0.2722	0.5019	-1.3	0.7529	0.3591	0.1957	-0.0417	0.7599	1.99	1.44	-0.9701	4.95
ABC(A-B)	-11.43	1.52	-14.5	-8.32	-	-	-	-	-8.45	4.19	-17.06	0.1538
BCD	-	-	-	-	-0.3267	0.1831	-0.7017	0.0483	-5.56	1.58	-8.79	-2.32
ABCD	-	-	-	-	-5.41	0.8736	-7.2	-3.62	-	-	-	-
ABD(A-B)	-10.43	1.58	-7.21	13.66	-	-	-	-	-	-	-	-
ACD	-	-	-	-	-	-	-	-	-4.15	1.58	-7.4	-0.9001

### 4.2.3. Representación Gráfica de los residuos en las variables respuesta para los modelos propuestos.

**Figura 9**

*Valores predichos vs Valores reales, Residuales vs Corrida de BAL(UFC/ml), Levaduras((Y)UFC/ml) y Aceptabilidad.*



#### 4.2.4. Optimización y Validación del Modelo Sugerido para la Obtención de Parámetros Óptimos (Mezclas de Jugos y Tipo de Inóculo) Mediante Cuantificación de BAL, Levaduras y Deseabilidad.

Para determinar los parámetros de fermentación se procedió a realizar los tratamientos propuestos (Tabla 18), los valores reales de BAL y levaduras obtenidos en la experimentación, se ajustaron procediendo a explorar la superficie de respuesta, determinando de esa manera la combinación de niveles y un modelo preciso para predecir los puntos más altos de tales concentraciones.

Para optimizar la bebida final se tomó en cuenta tanto las bacterias ácido lácticas como las levaduras, manteniendo el mismo nivel de importancia. Al aplicar una optimización numérica para la concentración de los componentes probióticos, prebióticos y de deseabilidad, se obtuvo una maximización en tres bebidas con diferentes mezclas.

Una vez analizado los datos del ANOVA del modelo sugerido se procedió a determinar los puntos óptimos para ello el programa estadístico sugirió cinco diferentes combinaciones de las variables que cumplan con los puntos óptimos, de los cuales se escogió a los tres primeros para realizar una validación de datos, tal como se describe en la tabla siguiente.

**Tabla 23**

*Mezclas óptimas para maximización de BAL y levaduras sugeridos por el modelo.*

Número	Suero	Jugo	Kéfir leche	Kéfir agua
*1	0.000	1.000	0.000	1.000
*2	0.729	0.271	0.000	1.000
*3	0.189	0.811	0.911	0.089
4	1.000	0.000	0.757	0.243
5	0.000	1.000	0.673	0.327

*Nota:* Los porcentajes del Kéfir representan el 4% (m/m).

Para la validación del modelo sugerido, se realizaron 5 repeticiones, para los puntos óptimos seleccionados (1, 2 y 3). Se realizó la validación de los parámetros óptimos que maximizan el crecimiento de probióticos y prebióticos, mediante 5 repeticiones para cada una de las condiciones.

Por lo tanto, la tabla 24 muestra los datos obtenidos luego de la experimentación, la media, desviación estándar de los valores predichos y reales, confirmando de esa manera la eficacia de los modelos utilizados para maximización de BAL y levaduras, corroborando los resultados obtenidos en la figura 8.

**Tabla 24**

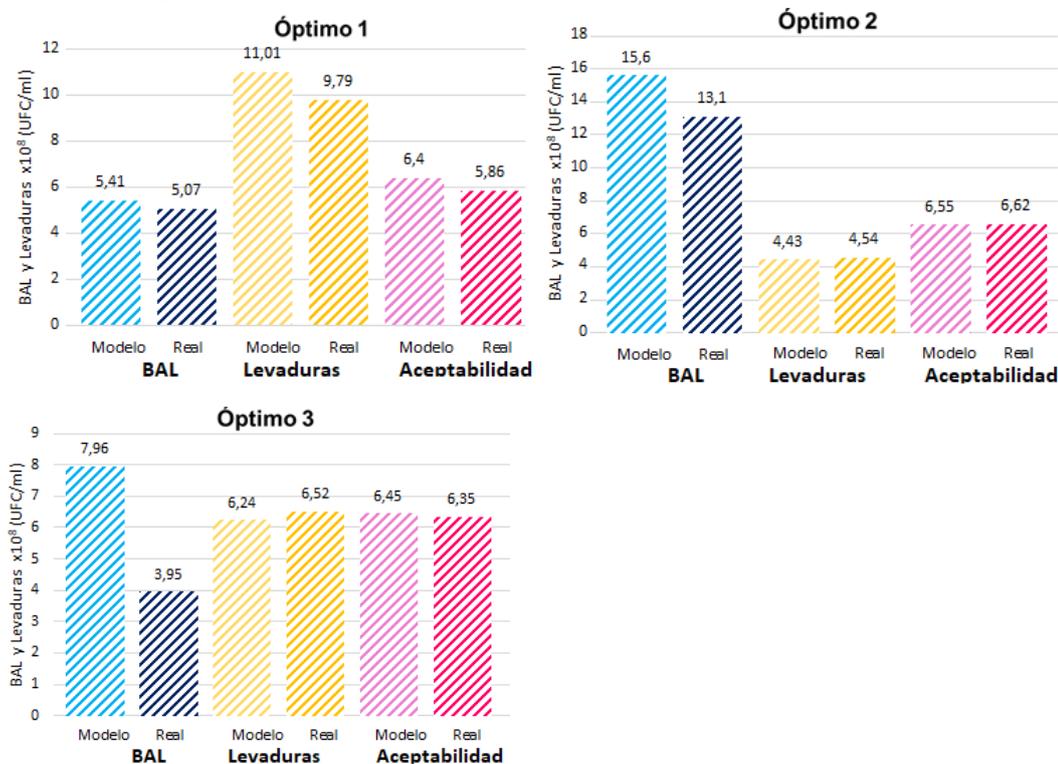
*Valores óptimos predichos y reales para maximización de las variables.*

	<b>Análisis</b>	<b><math>\bar{x}</math> Predicho</b>	<b><math>\bar{x}</math> Real</b>	<b>DE</b>	<b>95% IP bajo</b>	<b>95% IP alto</b>
<b>Óptimo 1</b>	BAL	5.41E+08	5.07E+08	0.47	2.88E+08	8.57E+08
	Levaduras	1.01E+09	9.79E+08	0.42	8.38E+08	1.19E+09
	Aceptabil.	6.4	5.86	0.097	5.8	7
<b>Óptimo 2</b>	BAL	1.56E+09	1.31E+09	0.11	7.76E+08	2.65E+09
	Levaduras	4.43E+08	4.54E+08	0.46	3.72E+08	5.20E+08
	Aceptabil.	6.55	6.62	0.085	5.9	7
<b>Óptimo 3</b>	BAL	7.96E+08	3.95E+08	0.43	3.62E+08	1.47E+09
	Levaduras	6.24E+08	6.52E+08	0.27	5.25E+08	7.31E+08
	Aceptabil.	6.45	6.35	0.144	5.64	7

Según Erdogan & Guzel (2021), para que los probióticos tengan un efecto saludable y beneficien a su consumidor, deben ser ingeridos en cantidades superiores de  $10^6$  UFC/ml con respecto a BAL, para levaduras cumplir con los mínimos establecidos de  $10^4$  UFC/ml para población de levaduras según (NTE INEN 2395). Por lo tanto, las tres bebidas óptimas cumplen con estas especificaciones para ser considerada una bebida probiótica, no obstante, se deben evaluar las características físico-químicas para poder determinar la bebida que contenga mayor condición nutrimental además de funcional.

**Figura 10**

*Representación de los Modelos de Validación para las tres bebidas óptimas puestas a experimentación.*



En la figura 10 se puede observar la validación de datos obtenidos mediante la fase experimental, obteniendo desviaciones estándar mayores a ( $p < 0.05$ ), deduciendo que la desviación no es estadísticamente significativa entre los valores reales y los valores predichos. De acuerdo con la tabla 24 los datos se encuentran dentro de los rangos predichos, confirmando la precisión de los modelos que fueron escogidos para optimizar las variables respuesta de BAL, levaduras y aceptabilidad.

En la descripción del óptimo 1 se puede evidenciar un alto contenido en la población de levaduras de  $9.79 \cdot 10^8$  (UFC/ml), en el óptimo 2 se evidencio el crecimiento mayor en las BAL  $13.1 \cdot 10^8$  (UFC/ml) y en el óptimo 3 un contenido de BAL  $6.24 \cdot 10^8$  (UFC/ml) mayores al contenido de levaduras, pero muy inferiores a los valores anteriores. Con respecto a la variable respuesta de aceptabilidad se mantienen valores equitativos no menores a 6 puntos en los dos últimos óptimos, no siendo así en el óptimo 1 obteniendo una calificación de 5.07, sabiendo que el valor máximo para la aceptación es de 7.

### 4.3. EVALUACIÓN DE LAS CUALIDADES FÍSICOQUÍMICAS, NUTRICIONALES Y ORGANOLÉPTICAS DE LAS BEBIDAS ÓPTIMAS.

Una vez obtenidos los datos correspondientes de las tres bebidas fermentadas con óptimas características con respecto a la concentración de bacterias ácido lácticas y levaduras, así como las características de deseabilidad en las bebidas.

**Tabla 25**

*Resultados de los análisis fisicoquímicos, nutricionales y organolépticos de los 3 productos finales óptimos.*

		Óptimo 1	Óptimo 2	Óptimo 3	Límites	
					Mín.	Max.
<b>MIX:1</b>	Suero	0	0.73	0.19	50%	
	Jugo	1	0.27	0.81	30%	
<b>MIX:2</b>	Kéfir Leche	0	0	0.91		
	Kéfir Agua	1	1	0.09		
<b>Experim.</b>	BAL., 10 <sup>8</sup> UFC/ml	5.09±0.47	13.1±0.11	3.97±0.43	>10 <sup>7</sup>	
	Lev., 10 <sup>8</sup> UFC/ml	9.79±0.41	4.56±0.46	6.52±0.27	>10 <sup>4</sup>	
	Anál. Sensorial	5.856±0.097	6.624±0.085	6.352±0.144	1	7
<b>Análisis Físico-químicos</b>	Proteína, % (m/m)	0.18	0.93	0.42	0.40%	
	Grasa, % (v/v)	0.13	0.44	0.23	3.00%	
	Acidez, % (m/m)	0.42	0.73	0.54	0.50%	1.50%
	Lactosa, % (m/v)	0	2.85	0.77	1.40%	
	pH	3.66	4.52	3.91		
	Viscosidad, cP	4.17	7.20	4.63		
	Etanol, °GL	2.14	0.51	2.05	0.5%	3%
	Sól. Solubles, °Brix	5.5	6.5	6.3		
<b>Normas de Referencia</b>	CODEX 243 <sup>d</sup>	INEN 2609 <sup>a</sup> INEN 2395 <sup>b</sup>	INEN 2608 <sup>c</sup>			

<sup>a</sup> NTE INEN 2609:2012 Bebidas de suero. Requisitos.

<sup>b</sup> NTE INEN 2395:2011 Leches Fermentadas. Requisitos.

<sup>c</sup> NTE INEN 2608:2012 Bebidas de leche Fermentadas. Requisitos

<sup>d</sup> CODEX 243:2018 Normas Internacionales de los Alimentos. Leches fermentadas.

Para realizar los análisis fisicoquímicos y nutricionales se tomó un porcentaje de las 5 repeticiones utilizadas en la optimización (Tabla 23) y así obtener un valor que garanticen un valor promedio más cercano.

Los valores obtenidos de BAL y levaduras de las tres bebidas óptimas finales fueron: para la población de BAL en la bebida óptima 5.9·10<sup>8</sup>, para la bebida óptima 2 de 1.31·10<sup>9</sup> y para la óptima 3 de 3.97·10<sup>8</sup>. Los resultados obtenidos se encuentran dentro de lo estipulado en la norma (NTE INEN 2395), indicando que las bebidas lácteas fermentadas consideradas pro y prebióticas deben de contener un mínimo de 10<sup>7</sup> UFC/ml.

La bebida que mayor cantidad de BAL presentó fue la que contenía mayor cantidad de suero (75%) y una cantidad inferior de jugo (0.27%), a su vez el inóculo utilizado fue de kéfir de agua en su totalidad, presentando un máximo de BAL entre los óptimos. En el conteo de levaduras se obtuvo para el óptimo 1 de 9.79·10<sup>8</sup> UFC/ml, óptimo 2 de 4.56·10<sup>8</sup> UFC/ml y óptimo 3 de 6,52·10<sup>8</sup> UFC/ml, alcanzando un nivel máximo la óptima 1 elaborada con jugo en su totalidad y fermentada con inóculos de kéfir de agua. Los tres resultados obtenidos se encuentran cumpliendo los requerimientos de mínimo 10<sup>4</sup> UFC/ml de levadura.

El resultado de la proteína obtenida en la bebida óptima 1 fue de 0.18% (m/m), mientras que en la bebida 2 de 0.93% (m/m) y la bebida 3 con un valor de 0.42% (m/m), esto indica que el mayor valor reportado es de la bebida 2 encontrándose dentro de los límites permitidos en la (NTE INEN 2609) al igual que la bebida 3, por otro lado la bebida 1 se encuentra por debajo del mínimo permitido por la norma siendo éste de 0,4% (m/m) proteína mínima en bebidas de suero.

El contenido de grasa en la bebida óptima 1 fue de 0.13% (v/v), en la bebida óptima 2 se obtuvo 0.44% (v/v) y en la bebida óptima 3 el resultado fue de 0.23% (v/v), en la cual la bebida óptima 2 presenta mayor contenido de grasa debido a que el 73% del producto está conformado por SL, no obstante, los valores de las tres bebidas se encuentran dentro de los parámetros establecidos por (NTE INEN 2608) donde indica el límite máximo de grasa es de 3% (v/v) en bebidas lácteas fermentadas.

El valor de acidez titulable se encuentra expresada por el % de ácido láctico, en las bebidas óptimas los valores fueron 0.42% (m/m), 0.73% (m/m), 0.54% (m/m) para la bebida 1, 2 y 3 respectivamente. En el (CODEX ALIMENTARIUS 243) indica que el mínimo requerido es del 0.50% (m/m) y el máximo de 1.50% (m/m), la bebida que no cumple con los parámetros es la óptima 1, mientras que la óptima 2 y 3 se encuentran dentro del rango establecido.

La lactosa de acuerdo a la norma (NTE INEN 2609) indica un valor establecido máximo de 1.4% (m/v) para bebidas deslactosadas, los contenidos de lactosa de la bebida óptima 1, 2 y 3 son de 0% (m/v), 2.85% (m/v) y 0.77% (m/v), teniendo en cuenta que la óptima 1 no contiene SL en su formulación, mientras que la óptima 2 y 3 no cumplen con los requerimientos establecidos para ser una bebida deslactosada.

El contenido inicial de lactosa del SL utilizado para las bebidas presentaron un contenido de 4.38%(m/v) (Tabla 21). Luego del proceso de fermentación se redujo alrededor del 65% de lactosa siendo esta una disminución considerable después de las 48 h de fermentación.

La disminución de lactosa después del proceso de fermentación con gránulos de kéfir de leche se pueden observar en otras investigaciones, donde se han obtenido resultados de un 45% del consumo de lactosa en el SL de vaca durante la fermentación en un periodo de 24 horas, adicionalmente presentando una caída de pH final de 4.75 (Lomas, 2005). Por lo que se deduce que la cantidad de lactosa mientras ocurre el periodo fermentación disminuye al igual que el pH siendo de esta manera directamente proporcional, por otro lado, el ácido láctico va aumentando debido a la actividad microbiana siendo inversamente proporcional al pH y lactosa.

Los valores de pH obtenidos en las bebidas óptimas 1, 2 y 3 son de 3.66, 4.57 y 3.91 respectivamente, los resultados comparados con la investigación de (Erdogan & Guzel, 2021) presentan una caída de pH como mínimo de 3.50 con kéfir de agua y de 4.30 con kéfir de leche en 48 h de fermentación, los valores obtenidos por las bebidas óptimas se encuentran dentro de éstos rangos corroborando así los datos.

El aumento de viscosidad bajo las condiciones óptimas de fermentación es una de las características del kéfir, especialmente si este contiene el sustrato necesario para el aumento de la actividad microbiana. Los datos obtenidos en la bebida óptima 1 es de 4.17 cPs, de la bebida 2 de 7.2 cPs y de la bebida 3 de cPs 4.63. Siendo la bebida óptima 2 la que presenta mayor viscosidad y a la vez mayor cantidad de BAL. La viscosidad aumenta por diferentes factores como el tiempo y la temperatura de fermentación, pero en especial cuando la fuente de carbono principal es la lactosa (Syrokou et al., 2019). Por lo tanto, cuando la fuente de carbono proviene de vegetales o frutas se produce una bebida efervescente y más ligera como se puede observar en los resultados obtenidos.

La norma (NTE INEN 2395) establece que los rangos de alcohol °GL en las bebidas lácteas fermentadas con kéfir deben estar en un rango de 0.5% a 1.5% (m/v) para que sea considerado una bebida kefirada suave y si contiene un máximo de alcohol de 3% (m/v) es considerada una bebida kefirada tipo fuerte. Los resultados obtenidos de las bebidas óptimas 1, 2 y 3 contienen un contenido alcohólico de (2.14, 0.51 y 2.05) % m/v respectivamente. Por lo tanto, el valor de la bebida óptima 2 se encuentra clasificada como una bebida suave y las bebidas 1 y 3 son consideradas como bebidas kefiradas tipo fuerte. Uno de los factores principales que inciden en la producción de alcohol es el tiempo de fermentación y el segundo factor relevante es el tipo de sustrato utilizado.

Los sólidos solubles son una fuente de energía rápida utilizada en la fermentación que son consumidas por los microorganismos, en el SL se encuentra la lactosa y en las frutas como principal fuente de energía es la sacarosa, los valores reportados al iniciar la fermentación de las bebidas óptimas fueron (6, 6.9, 8.9) °Brix presentando una disminución de sólidos solubles al finalizar con valores de (5.5, 6.5, 6.3) representando alrededor del 15%.

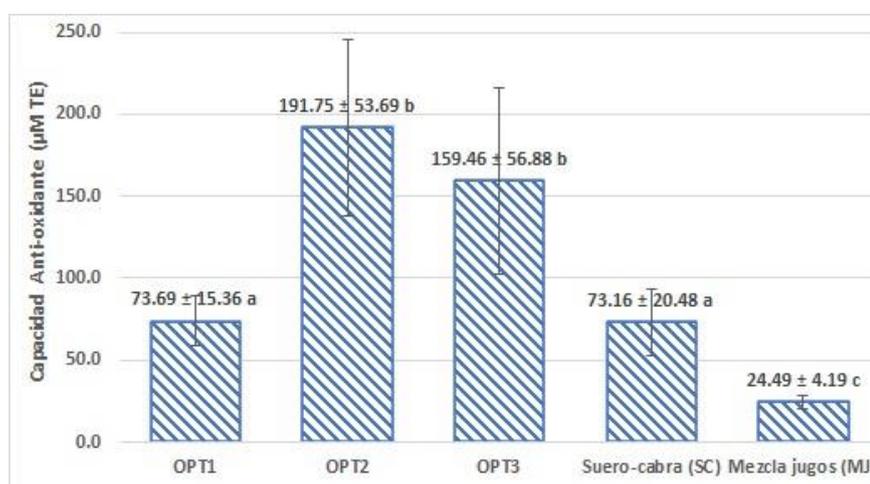
La bebida que contiene mayor porcentaje nutricional es el óptimo 2 debido a que el suero de leche representa su mayor componente, además de cumplir con las normativas ecuatorianas. Por lo tanto, es la bebida que es considerada como óptima.

### 4.3.1. Análisis de Capacidad Antioxidante

La capacidad antioxidante CA permite determinar la cantidad y calidad de antioxidantes presentes en las materias primas utilizadas para la elaboración de la bebida. Por este motivo se realizó el análisis de CA para conocer la influencia del kéfir en las bebidas fermentadas con relación a la materia prima utilizada. La figura 11 presenta los resultados obtenidos de la evaluación de capacidad antioxidante mediante la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH).

**Figura 11**

*Diferencias entre tratamientos para la variable Capacidad Antioxidante*



Los reportes de investigación por Altamirano et al. (2021) señala que los sustratos obtenidos de las bebidas fermentadas con kéfir juegan un papel importante en el aumento de la actividad antioxidante, es así como las bebidas fermentadas óptimo 2 ( $191.75 \pm 53.69$ ) y óptimo 3 ( $159.46 \pm 56.88$ ) presentaron mayor capacidad antioxidante, al existir una interacción entre el suero de cabra SC y mezcla de jugos MJ.

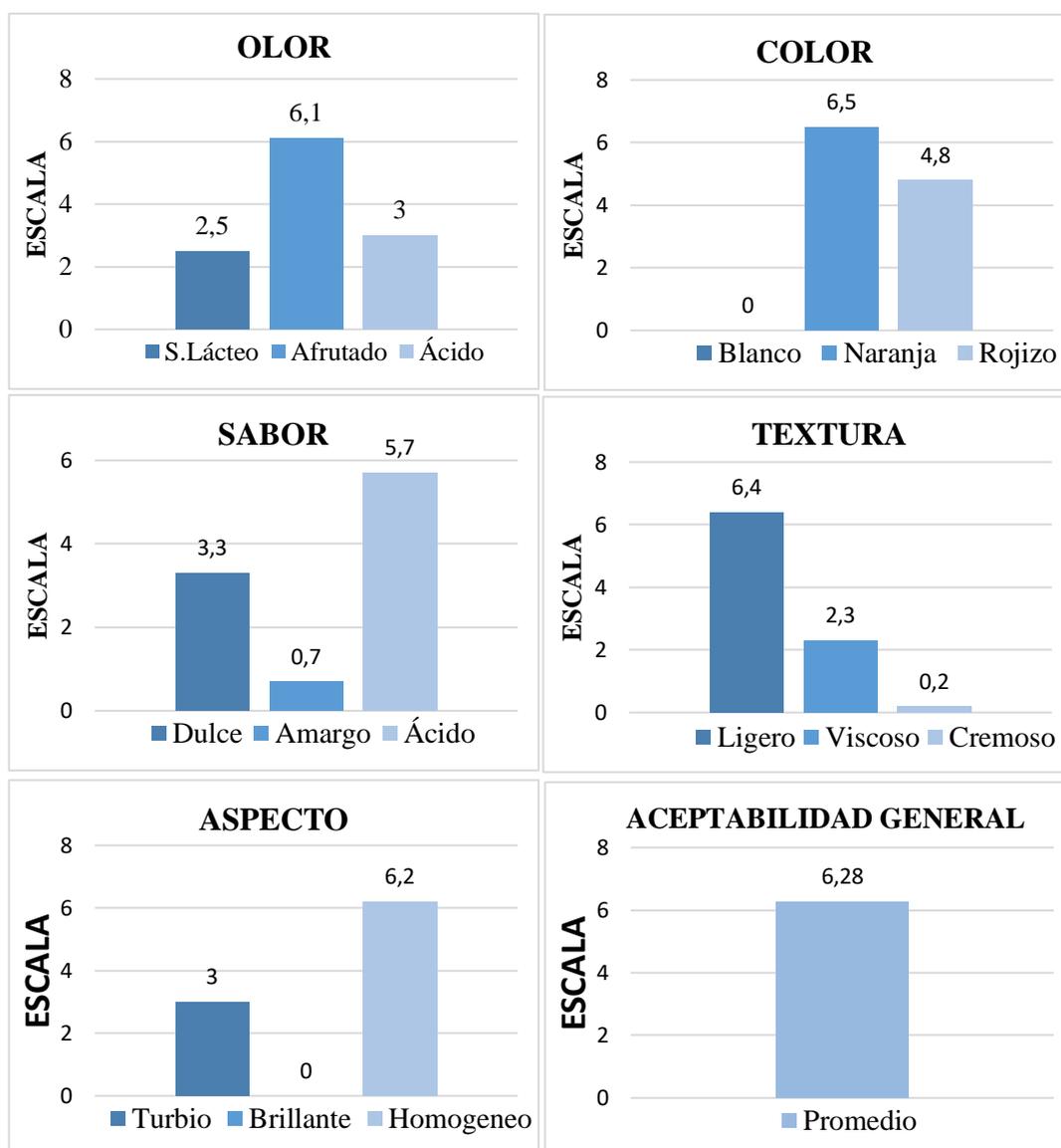
Por otro lado, la CA de la bebida óptima 1 presentó un CA de  $73.69 \pm 15.36$  siendo una de las bebidas con menor potencial antioxidante, de igual manera las materias primas por separado sin fermentar presentaron bajos valores. Por consiguiente, la fermentación con kéfir de las mezclas suero de cabra y jugo de frutas produce un efecto positivo para la capacidad antioxidante.

### 4.3.2. Análisis Sensorial de la Mejor Bebida Obtenida.

Para poder conocer a detalle las cualidades sensoriales de la bebida con mayor contenido nutricional (óptimo 2), empleando una ficha de degustación (Anexo 12), en donde 15 panelistas analizaron los parámetros mediante la apariencia de la bebida y características olfato gustativas clasificados en 6 fases: textura, olor, color, sabor, aspecto y aceptabilidad.

**Figura 12**

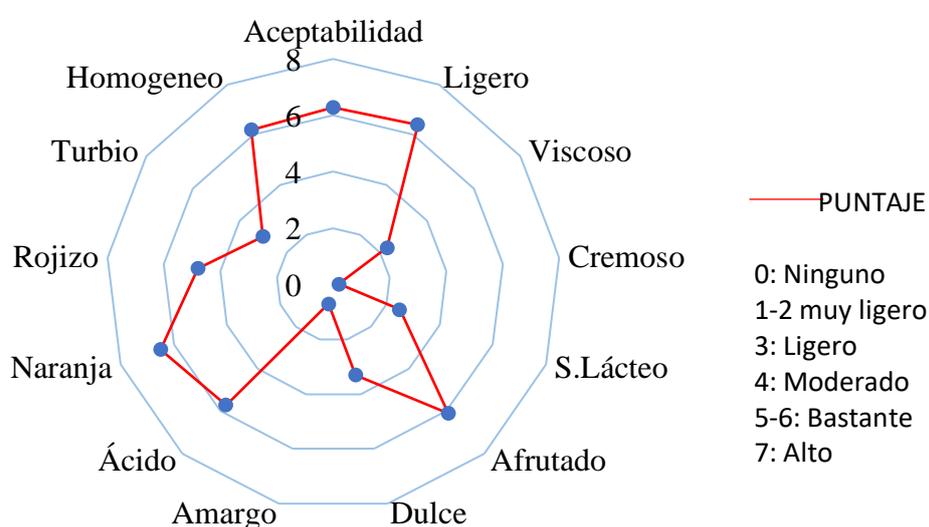
*Valores obtenidos en el análisis sensorial (Olor, Color, Sabor, Textura y Aceptabilidad General) de la bebida funcional considerada óptima.*



En la figura 12, se muestran los resultados del perfil sensorial (olfato-gustativas y de textura) de la bebida funcional valorados por los panelistas y analizados por la prueba de Friedman, con respecto al olor se obtiene un puntaje máximo de 6.1 siendo predominante el olor afrutado, un color anaranjado con un puntaje de 6.5 debido al color característico de las frutas utilizadas, un sabor ácido de 5.7 otorgadas en la fermentación por levaduras, presentó una viscosidad baja de 2.3 y un aspecto homogéneo de 6.2 sin presentar separaciones.

**Figura 13**

*Representación Gráfica Distribuida del Perfil Sensorial.*



En la Figura 13, el puntaje en la distribución del perfil sensorial indica una aceptabilidad general aceptable, siendo un componente principal para la comercialización del producto, además de ser atractivo para tomar la decisión de compra. Entre otras características poco notables de la bebida es su baja textura cremosa (fluida), ligero olor a suero lácteo, un sabor dulce ligero (sin adición de endulzante) y con un sabor amargo casi imperceptible.

## CAPITULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1 CONCLUSIONES

- ✓ El suero de leche de cabra, extraído mediante una coagulación enzimática, contuvo los nutrientes necesarios para permitir el desarrollo de bacterias ácido lácticas y levaduras, cumpliendo con los requerimientos establecidos para ser considerada una bebida probiótica ( $> 10^6$  UFC/ml de BAL y  $\geq 10^4$  UFC/ml de levaduras) según la norma (NTE INEN 2395).
- ✓ La metodología de superficie de respuesta utilizada para encontrar los modelos de maximización resultó válida para optimizar estos complejos procesos microbianos.
- ✓ Mediante los análisis fisicoquímicos y funcionales realizados, se concluye que la bebida óptima 2 presenta los mejores resultados, llevando a cabo con el cumplimiento de las normas establecidas NTE INEN 2609, INEN 2608, INEN 2395 y CODEX 243.
- ✓ La medición de las cualidades organolépticas permitió diagnosticar que la mejor bebida funcional es la óptima 2, con un valor de 6 sobre 7; ya que las levaduras presentes en los gránulos de kéfir son los principales factores de influencia, se concluye, por lo tanto, que sus aportes presentan cualidades benéficas en el producto y así mismo, en la elaboración de bebidas fermentadas.
- ✓ Se acepta la hipótesis alternativa debido a que la mezcla optimizada de suero de leche y jugos de frutos andinos incrementa en más del 25% los conteos de bacterias ácido lácticas, levaduras y propiedades nutricionales con respecto a los del jugo y el suero empleados en su preparación por separado.

## **5.2 RECOMENDACIONES**

- ✓ Realizar un estudio de viabilidad de las bacterias ácido lácticas y levaduras en el transcurso del tiempo durante el periodo de almacenamiento del producto final.
- ✓ Para estudios similares a este producto es recomendable utilizar prebióticos como la inulina y oligofructosa para potencializar el desarrollo de bacterias probiótica.
- ✓ Se sugiere variar las condiciones de fermentación como: la temperatura de incubación y el tiempo; con la finalidad de potencializar el desarrollo de las bacterias ácido lácticas y levaduras.
- ✓ Determinar la estabilidad de los gránulos de kéfir midiendo el número de veces que puede ser utilizado en suero lácteo para observar la eficacia en cada recambio.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abad, A., Bendersky, S., Genevois, C., Granzella, L., & Montonati, M. (2007). Alimentos funcionales: fibra, prebióticos, probióticos y simbióticos. *Functional foods: Fiber, Prebiotics, Probiotics and Simbiotics. DIAETA (B.Aires)*, 20(25).
- Acuña, A., & Tejada, A. (2017). Avances en el estudio de la bioactividad multifuncional del kéfir. *Interciencia*, 42(6).
- Aghlara, A., Mustafa, S., Manap, Y. A., & Mohamad, R. (2009). Characterization of headspace volatile flavor compounds formed during kefir production: Application of solid phase Microextraction. *International Journal of Food Properties*, 12(4). <https://doi.org/10.1080/10942910802073189>
- Agudelo, N., & Torres, M. (2015). Bacteriocinas Producidas Por Bacterias Ácido Lácticas Y Su Aplicación En La Industria De Alimentos. *Alimentos Hoy*, 23(36).
- Altamirano, C., Carranza, M., Noriega, H., & Toro, S. (2021). *Vista de Efecto de los sustratos en la producción de la biomasa de los granos de kéfir y la actividad antioxidante.* <https://biotecnia.unison.mx/index.php/biotecnia/article/view/1614/644>
- Angulo, L., & Lema, C. (2009). Microflora Present in Kefir Grains of the Galician Region (North-West of Spain). *Journal of Dairy Research*, 60(2). <https://doi.org/10.1017/S002202990002759X>
- Araya, M. L. (2016). Functional and Healthy Foods. *Revista Chilena de Nutrición*, 30.
- Avigdory, H. (2016). Strawberry. Handbook of fruit set and development. In *Handbook of fruit set and development* (Vol. 2, pp. 568–690).
- Bazán, L. (2020). Producción y caracterización de bebidas funcionales obtenidas por fermentación de zumos de frutas con gránulos de kéfir. In *Universidad Compluense de Madrid*.
- Bedoya, M. (2016). Trabajos seleccionados sobre producción lechera en la sierra ecuatoriana. *Maskana*, 6(Supl.).
- Beltrán, A., & Ramos, M. (2010). Estudio de la Vida Útil de Fresas (*Fragaria vesca*) Mediante Tratamiento con Radiación Ultravioleta de Onda Corta (UV-C). *Revista Tecnológica ESPOL – RTE*, 23(2).
- Brito, H., & Villalón, P. (2015). Aprovechamiento del suero de leche como bebida energizante para minimizar el impacto ambiental. *European Scientific Journal*, 11(26).

- Calvo, I., & López, A. (2018). El rol de la Industria Alimentaria en la Nutrición. In *E Alimentación Revistas Enfásis*.
- Camp, M. (2006). Mulch types affect fruit quality and composition of two strawberry genotypes. *HortScience*, 33(4). <https://doi.org/10.21273/hortsci.33.4.636>
- Carvajal, E. (2020). Plan de negocios para la producción y comercialización de leche y quesos de cabra. *Dirección Nacional de Investigación y Estudios de La Superintendencia de Compañías, Valores y Seguros Del Ecuador*.
- Casaus, P., & Huertas, R. (2017). Review. bacterias ácido lácticas: papel funcional en los alimentos. *Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial: BSAA*, 8(1).
- Casierra, F., Olmos, J., & Vargas, A. (2011). Propiedades Físicoquímicas de Fresas (*Fragaria* sp) Cultivadas Bajo Filtros Fotoselectivos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía - Medellín*.
- Cerón, A. (2012). Caracterización física, química y compuestos bioactivos de pulpa madura de tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*). (*D. d. Bioquímicos, Ed.*) *Órgano Oficial de La Sociedad Latinoamericana de Nutrición*, 62(4).
- Chen, Y. (2012). *Lactobacillus kefirifaciens* M1 isolated from milk kefir grains ameliorates experimental colitis in vitro and in vivo. *Journal of Dairy Science*, 95(1). <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4696>
- Ciro, H., & Vahos, D. (2005). Estudio experimental de la fuerza de fractura en frutas tropicales: el tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* Sendt). *Dyna*, 72(146).
- CODEX ALIMENTARIUS 243. (2003). *NORMA PARA LECHES FERMENTADAS*. [https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B243-2003%252FCXS\\_243s.pdf](https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B243-2003%252FCXS_243s.pdf)
- CODEX STAN 289. (2011). *Leche y Productos Lácteos Segunda edición*. <http://www.codexalimentarius.org>
- Coronado, M., & Guerra, M. (2016). Desarrollo de yogurt con capacidad antioxidante elaborado con leche de cabra (*Capra hircus*) y tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* Sendt). *Red de Repositorios Latinoamericanos*.
- Cortés, C., & Zapata, R. (2014). EVALUATION OF THE LACTIC FERMENTATION OF MILK WITH ADDITION OF QUINOA (*Chenopodium quinoa*). *Vitae*, 19(1).
- Cortés, M., Chiralt, A., & Puente, L. (2005). Alimentos funcionales: una historia con mucho presente y futuro. *Vitae*, 12(1).
- Delicia, B. (2020). *Producción y Caracterización de bebidas funcionales obtenidas por fermentación de zumos de frutas con gránulos de kéfir*. Universidad de Vigo.

- Dertli, E., & Lim, A. (2019). The effect of kefir produced from natural kefir grains on the intestinal microbial populations and antioxidant capacities of Balb/c mice. *Food Research International*, 408–413.
- Dertli, Enes, & Hilmi, L. (2017). Microbial diversity of traditional kefir grains and their role on kefir aroma. *LWT - Food Science and Technology*, 85. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.07.017>
- Dolores, M., & Bazán, F. (2002). Tendencias en la producción de alimentos: alimentos funcionales. *Revista Salud Pública y Nutrición*, 3(3).
- Erdogan, M., & Guzel, Z. (2021). A comparison of milk kefir and water kefir: Physical, chemical, microbiological and functional properties. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 113). <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.04.041>
- Escobar, I., & Ugarte, M. (2020). Eficacia de métodos de desinfección y los efectos sobre las propiedades nutraceuticas en cilantro y fresa. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 11(2). <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i2.1892>
- Escudero, F., & Alvarado, C. (2007). EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN RECURSOS. *Rev Soc Quím Perú*, 73(3)(142-149.).
- Farnworth, E. R. (2008). Handbook of fermented functional foods. In *Handbook of Fermented Functional Foods, Second Edition*. <https://doi.org/10.1201/9781420053289>
- Fiorda, F. A., Melo Pereira, G. V., Thomaz-Soccol, V., Rakshit, S. K., Pagnoncelli, M. G. B., Vandenberghe, L. P. de S., & Soccol, C. R. (2017). Microbiological, biochemical, and functional aspects of sugary kefir fermentation - A review. In *Food Microbiology* (Vol. 66). <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.04.004>
- García, C. (2008). *Manual de Manejo Cosecha y Poscosecha de Tomate de árbol*. [www.produmedios.com](http://www.produmedios.com)
- González, B., & Jiménez, S. (2006). Efecto de microorganismos probióticos sobre el crecimiento de Salmonella enteritidis var. *Ciencia UANL*, 365–374.
- Grijalva, R. (2016). PHYTOPARASITIC NEMATODES ASSOCIATED WITH TREE TOMATO (*Solanum betaceum* Cav.) IN THE PROVINCES OF IMBABURA, PICHINCHA AND TUNGURAHUA, ECUADOR. *Semantic Scholar*.
- Guevara, R. (2017). Production procedure of a fermented milky drink using lactosuero. *Revista Chilena de Nutricion*, 44(1). <https://doi.org/10.4067/S0717-75182017000100006>
- Hatmal, M., & Taha, M. (2018). Exploring the influence of culture conditions on kefir's anticancer properties. *Journal of Dairy Science*, 101(5). <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13539>
- Heredia, G. (2016). *Evaluación de las Pérdidas Poscosecha tanto Físicas y de*

*Calidad en el Sistema de Producción agrícola Ecuatoriano*. Ministerio de Agricultura y Ganadería.

Huseini, H. F., Rahimzadeh, G., Fazeli, M. R., Mehrazma, M., & Salehi, M. (2012). Evaluation of wound healing activities of kefir products. *Burns*, 38(5). <https://doi.org/10.1016/j.burns.2011.12.005>

INAMHI. (2019). *RED DE ESTACIONES METEOROLÓGICAS E HIDROLÓGICAS*.

Irigoyen, A., Arana, I., Castiella, M., Torre, P., & Ibáñez, F. C. (2005). Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage. *Food Chemistry*, 90(4). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.04.021>

Jha, L., & Kingsly, Z. (2020). The effect of high-power ultrasound on the rheological properties of strawberry pulp. *Ultrasonics Sonochemistry*, 67. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105144>

Kasperbauer, M. J., Loughrin, J. H., & Wang, S. Y. (2001). Light Reflected from Red Mulch to Ripening Strawberries Affects Aroma, Sugar and Organic Acid Concentrations¶. *Photochemistry and Photobiology*, 74(1). [https://doi.org/10.1562/0031-8655\(2001\)074<0103:lrfmt>2.0.co;2](https://doi.org/10.1562/0031-8655(2001)074<0103:lrfmt>2.0.co;2)

Laureys, D., & De Vuyst, L. (2017). The water kefir grain inoculum determines the characteristics of the resulting water kefir fermentation process. *Journal of Applied Microbiology*, 122(3). <https://doi.org/10.1111/jam.13370>

Leite, A., & Gudiño, O. (2013). Microbiological, technological and therapeutic properties of kefir: A natural probiotic beverage. In *Brazilian Journal of Microbiology* (Vol. 44, Issue 2). <https://doi.org/10.1590/S1517-83822013000200001>

Lezcano, A. (2008). Algunos indicadores bromatológicos y productos finales de la fermentación para la obtención de cuatro tipos de Saccharina inoculados con Vitafert. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 35(2).

Liu, J.-R., Wang, S.-Y., Chen, M.-J., Chen, H.-L., Yueh, P.-Y., & Lin, C.-W. (2006). Hypocholesterolaemic effects of milk-kefir and soyamilk-kefir in cholesterol-fed hamsters. *British Journal of Nutrition*, 95(5). <https://doi.org/10.1079/bjn20061752>

Lomas, G. (2005). *Aprovechamiento de Suero de Leche de Cabra como Sustrato para el Desarrollo de un Producto Fermentado Probiótico con: Bifidobacterium Bifidum y Lactobacillus Acidophilus*.

Londero, A. (2012). *Alimentos funcionales: obtención de un producto probiótico para aves a partir de suero de quesería fermentado con microorganismos de kefir*. Repositorio Institucional de la UNLP.

López, E. (2017). *Estudios Preliminares Sobre la Utilización de Suero Lácteo de Cabra como Alimento Líquido*. Universidad de Córdoba.

- Lopitz, F., Elguezabal, N., & Garaizar, J. (2009). Kefir: A symbiotic yeasts-bacteria community with alleged healthy capabilities. In *Cell Biology and Stem Cells Unit* (CIC bioGUNE, Vol. 2, pp. 67–74). Parque Tecnológico de Bizkaia.
- Marquez, C., & Otero, C. (2007). Cambios fisiológicos, texturales, fisicoquímicos y microestructurales del tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* S. ) en poscosecha. *Vitae*, 14(2).
- Marshall, V. M., & Cole, W. M. (2009). Methods for Making Kefir and Fermented Milks Based on Kefir. *Journal of Dairy Research*, 52(3). <https://doi.org/10.1017/S0022029900024353>
- Mayer, M., & Montoya, F. (2016). Fermentación láctica en continuo a partir de suero dulce de leche desproteínizado. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 1(1).
- Meza, N., & Méndez, J. (2009). Características del fruto de tomate de árbol (*Cyphomandra betaceae* [Cav.] Sendtn) basadas en la coloración del arilo, en la Zona Andina Venezolana. *Revista Científica UDO Agrícola*, 9(2).
- Monteros, L. (2007). *Estadística descriptiva*. [https://books.google.com.ec/books?id=D6sj2d0xTgUC&printsec=frontcover&dq=estadística&hl=es-419&sa=X&redir\\_esc=y#v=onepage&q=estadística&f=false](https://books.google.com.ec/books?id=D6sj2d0xTgUC&printsec=frontcover&dq=estadística&hl=es-419&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=estadística&f=false)
- Morales, G. (2014). Alimentos funcionales, Nutraceuticos y foshu: ¿vamos hacia un nuevo concepto de alimentación? In *Revista Chilena de Nutricion* (Vol. 41, Issue 2). <https://doi.org/10.4067/S0717-75182014000200011>
- Multianalityca S.A. (n.d.). *Laboratorio de Análisis y Aseguramiento de la Calidad-Acreditado por el SAE*. Av. Edmundo Chiriboga N47-154-Quito 170510. Retrieved January 29, 2022, from <https://multianalityca.com/>
- Muñoz, B., & Reyes, I. (2009). Isolation, identification and characterisation of lactic acid bacteria for the manufacture of tropical cream cheese. *SciELO Analytics*.
- NTE INEN 2337. (2008). *INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN NORMA TÉCNICA ECUATORIANA( Jugos, Pulpas, Concentrados de frutas y vegetales, Requisitos)*. <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/2337.pdf>
- NTE INEN 2395. (2011). *INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN( LECHE FERMENTADAS REQUISITOS)*. <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte-inen-2395-2r.pdf>
- NTE INEN 2608. (2012). *INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN(BEBIDA DE LECHE FERMENTADA, REQUISITOS)*. <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/2608.pdf>
- NTE INEN 2609. (2012). *INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN (BEBIDAS DE SUERO, REQUISITOS)*.

<https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/2609.pdf>

- NTE INEN 2623. (2015, December). *LECHE PASTEURIZADA DE CABRA. REQUISITOS PASTEURIZED GOAT MILK. REQUIREMENTS*. <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte-inen-2623-1.pdf>
- NTE INEN 2624. (2014). *Leche Cruda de Cabra, Requisitos, Norma Técnica Ecuatoriana*. [https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte\\_inen\\_2624.pdf](https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_2624.pdf)
- Núñez, V., Fernandez, M., & Acuña, A. (2009). Actividad antimicrobiana de kéfir frente a bacterias patógenas del tracto intestinal. *Avances de Investigación En La Inocuidad de Alimentos*.
- Otles, S., & Ozlem, C. (2003). Kefir: A Probiotic Dairy-Composition, Nutritional and Therapeutic Aspects. In *Pakistan Journal of Nutrition* (Vol. 2, Issue 2).
- Otsoa, F., & Rementeria, A. (2006). Kefir: A symbiotic yeasts-bacteria community with alleged healthy capabilities. In *Revista Iberoamericana de Micología* (Vol. 23, Issue 2). [https://doi.org/10.1016/s1130-1406\(06\)70016-x](https://doi.org/10.1016/s1130-1406(06)70016-x)
- Parra, R. (2010). Bacterias ácido lácticas: uso en la industria alimentaria. *Bioteología En El Sector Agropecuario Y Agroindustrial*, 92–107.
- Pérez, D., & González, J. (2016). *Análisis NIRS de Parámetros Químicos y Microbiológicos de Leche de Cabra y Suero de Quesería*. Universidad Nacional de Santiago de Estero.
- Puglieri, S., & Lima, D. (2021). Kefir reduces nitrosative stress and upregulates Nrf2 in the kidney of diabetic rats. *International Dairy Journal*, 114. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104909>
- Quezada, J. (2011). Caracterización morfológica y molecular del tomate de árbol, *Solanum betaceum* Cav. (Solanaceae). *Biology*.
- Quintero, R. (2002). *Ingeniería Bioquímica y Aplicaciones*. (pp. 5–37).
- Randazzo, W., Corona, O., Guarcello, R., Francesca, N., Germanà, M. A., Erten, H., Moschetti, G., & Settanni, L. (2016). Development of new non-dairy beverages from Mediterranean fruit juices fermented with water kefir microorganisms. *Food Microbiology*, 54. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.10.018>
- Rivera, D., Peralta, G., Fajardo, D., Ureña, P., Andrade, J., & Nivelá, P. (2012). Efecto del Tipo y Tiempo de Fermentación en la calidad Fisicoquímica del cacao. *Ciencia y Tecnología*, 5(1), 7–12.
- Sabokbar, N., Moosavi-Nasab, M., & Khodaiyan, F. (2015). Preparation and characterization of an apple juice and whey based novel beverage fermented using kefir grains. *Food Science and Biotechnology*, 24(6). <https://doi.org/10.1007/s10068-015-0278-6>
- Salazar, R., Barahona, A., & Ortiz, K. (2016). *Efecto del consumo de jugo de tomate*

*de árbol (Cyphomandra betacea) sobre el perfil lipídico y las concentraciones de glucosa en adultos con hiperlipidemia.*

- Sánchez, J., & Medina, R. (2015). Modelo de hidrólisis de lactosa para fermentación láctica en una base probiótica y simbiótica. *Revista Tecnológica ESPOL-RTE*, 28(3).
- Serrano, M. E., López, M., & Saíenz, E. (2006). Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. *Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas*, 37(4).
- Simova, E., Beshkova, D., Angelov, A., Hristozova, T., Frengova, G., & Spasov, Z. (2002). Lactic acid bacteria and yeasts in kefir grains and kefir made from them. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 28(1). <https://doi.org/10.1038/sj/jim/7000186>
- Sistrunk, J., & Morris, A. (2003). Estudio de los efectos sobre las propiedades nutraceuticas de la fresa. *AVI, Westport*, 217-256.
- Syrokou, M. K., Papadelli, M., Ntaikou, I., Paramithiotis, S., & Drosinos, E. H. (2019). Sugary kefir: Microbial identification and biotechnological properties. *Beverages*, 5(4). <https://doi.org/10.3390/beverages5040061>
- Tiss, M., & Souiy, Z. (2020). Fermented soy milk prepared using kefir grains prevents and ameliorates obesity, type 2 diabetes, hyperlipidemia and Liver-Kidney toxicities in HFFD-rats. *Journal of Functional Foods*, 67. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103869>
- Torres, A., & Rodríguez, C. (2017). Inferring the role of microorganisms in water kefir fermentations. *International Journal of Food Science and Technology*, 52(2). <https://doi.org/10.1111/ijfs.13312>
- Valencia, D., & Fisher, G. (2016). Propiedades fisicoquímicas de siete variedades destacadas de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.) cultivadas en Cundinamarca (Colombia), durante su maduración. *Corpoica Cienc Tecnol Agropecuaria*.
- Vardjan, T. (2013). Characterization and stability of lactobacilli and yeast microbiota in kefir grains. *Journal of Dairy Science*, 96(5). <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5829>
- Varela, G. (2008). Fisiología y metabolismo bacteriano. *Uruguay, Editorial Cefa*.
- Villacis, H., & Monzón, A. (2017). *Desarrollo de bebidas fermentadas con frutos tropicales*.
- Villares, M., Sánchez, J., & Mora, O. (2018). CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE FRUTOS DE TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betaceum* Cav.) DE UNA POBLACIÓN SEGREGANTE. *Revista de Investigación Talentos*, 1, 9–19.
- Vursavus, K., & Kelbek, H. (2006). A study on some chemical and physicommechanic properties of three sweet cherry varieties. *Journal of Food Engineering*, 568-576.

- Walstra, P., Geurts, T., & Jellema, A. (2001). *Ciencia de la Leche y Tecnología de los Productos Lácteos* (Acribia,S.A.).
- Wang, M. C. (2020). Putative Probiotic Strains Isolated from Kefir Improve Gastrointestinal Health Parameters in Adults: a Randomized, Single-Blind, Placebo-Controlled Study. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 12(3). <https://doi.org/10.1007/s12602-019-09615-9>
- Witthuhn, R. C., & Schoeman, T. (2005). Characterisation of the microbial population at different stages of Kefir production and Kefir grain mass cultivation. *International Dairy Journal*, 15(4). <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.07.016>
- Yılmaz, İ., & Özpınar, H. (2019). Effect of administering kefir on the changes in fecal microbiota and symptoms of inflammatory bowel disease: A randomized controlled trial. *Turkish Journal of Gastroenterology*, 30(3). <https://doi.org/10.5152/tjg.2018.18227>
- Zeynep, B., Erdogan, F., & Ozarslan, S. (2019). The effect of kefir produced from natural kefir grains on the intestinal microbial populations and antioxidant capacities of Balb/c mice. In *Food Research International* (Vol. 115). <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.10.080>

# ANEXOS

Anexo 1. Fotografías del proceso de extracción de suero lácteo de cabra.

**a. Obtención leche de cabra**



**b. Esterilización**



**c. Adición del cuajo**



**d. Corte y Reposo**



**e. Desuerado**



**f. Queso fresco**



**g. Análisis fisicoquímicos Ekomilk**



**f. Análisis fisicoquímicos CryoSmart**



**Anexo 2. Fotografías del proceso de obtención de jugo de tomate.**

**a. Selección y lavado**



**b. Pesado**



**c. Esterilización**



**d. Pelado**



**e. Licuado**



**f. Tamizado**



**Anexo 3. Fotografías proceso de obtención de jugo de fresa.**

**a. Selección y lavado**



**b. Pesado**



**c. Esterilización**



**d. Pelado**



**e. Licuado**



**f. Tamizado**

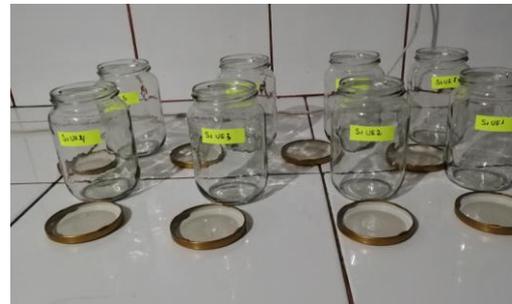


**Anexo 4. Fotografías del proceso de elaboración de bebida fermentada.**

**a. Esterilización de envases**



**b. Etiquetado**



**c. Mezclado de soluciones**



**d. Toma de datos pH y °Brix**



**e. Inoculación del cultivo KA**



**f. Inoculación del cultivo KL**



**g. Toma de muestras**



**h. Fermentación por 48 horas**



**Anexo 5. Fotografías análisis realizados.**

**a. Esterilización del material**



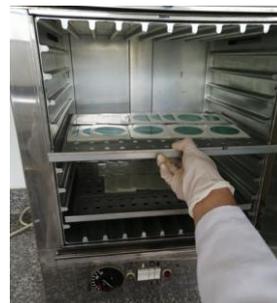
**b. Realización de disoluciones**



**c. Inoculación en placas petrifilm**



**d. Incubación**



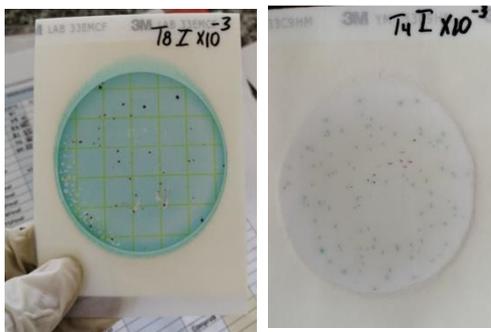
**e. Conteo de BAL y levaduras**



**f. Placas petrifilm BAL y Levaduras**



**f. BAL y Levaduras obtenidas**



**g. Toma de muestras en celdas**



**h. Lectura en espectrofotómetro**



**i. Degustación**



## Anexo 6. Resultados fisicoquímicos de la bebida optima 1.



### INFORME DE RESULTADOS

INF.DIV-  
FQ.58597a

#### DATOS DEL CLIENTE

<b>Cliente:</b>	NASTAR MARCILLO DIANA ALEXANDRA
<b>Dirección:</b>	SAN GABRIEL
<b>Teléfono:</b>	096 059 0517

#### DATOS DE LA MUESTRA

<b>Muestra de:</b>	ALIMENTO		
<b>Descripción:</b>	BEBIDA CON SUERO DE LECHE, JUGO DE FRUTAS FERMENTADA CON KÉFIR (TRAT.1)		
<b>Lote</b>	---	<b>Contenido Declarado:</b>	300mL
<b>Fecha de Elaboración:</b>	---	<b>Fecha de Vencimiento:</b>	---
<b>Fecha de Recepción:</b>	2022-01-11	<b>Hora de Recepción</b>	16:24:40
<b>Fecha de Análisis:</b>	2022-01-12	<b>Fecha de Emisión:</b>	2022-01-14
<b>Material de Envase:</b>	VIDRIO		
<b>Toma de Muestra realizada por:</b>	El cliente.		
<b>Observaciones:</b>	Los resultados reportados en el presente informe se refieren a los datos y las muestras entregadas por el cliente a nuestro laboratorio.		

#### CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA

<b>Color:</b>	Característico.	<b>Olor:</b>	Característico.
<b>Estado:</b>	Líquido.	<b>Conservación:</b>	Refrigeración
<b>Temperatura de la muestra:</b>	5°C		

#### RESULTADOS FISICOQUÍMICO

PARAMETROS	RESULTADO	UNIDAD	METODO DE ANALISIS INTERNO	METODO DE ANALISIS DE REFERENCIA
<sup>1</sup> *PROTEINA	0.18	(F: 6.25) %	MFQ-01	AOAC 2001.11/ Volumetría, Kjeldahl
<sup>1</sup> *GRASA	0.13	%	MFQ-02	AOAC 2003.06/ Gravimetría, Soxhlet
ACIDEZ	0.42	% ácido láctico	MFQ-07	AOAC 947.05/ Volumetría

**Nota 1:** Laboratorio de ensayo acreditado por el SAE con acreditación N° SAE LEN 09-008.

**Nota 2:** <sup>1</sup>\* "El ensayo marcado con (<sup>1</sup>\*) se encuentra acreditado en la matriz correspondiente, pero está fuera del rango acreditado por el SAE".

Se prohíbe la reproducción del presente informe de resultados, excepto en su totalidad previa autorización escrita de Multianalityca S.A.

Cualquier información adicional correspondiente a los ensayos está a disposición del cliente cuando lo solicite.

El Tiempo de Retención de las Muestras en el Laboratorio a partir de la fecha de ingreso será de 15 días para muestras perecibles y 1 mes calendario para muestras medianamente perecibles y estables. Muestras para análisis microbiológicos 5 días laborables a partir de la fecha de análisis, posterior a este tiempo, el laboratorio no podrá realizar reensayos para verificación de datos o valores no conformes por parte del cliente.

Toda la información relacionada con datos del cliente e ítems de ensayo (muestras) y que pueda afectar a la validez de los resultados, ha sido proporcionada y son responsabilidad exclusiva del cliente. El laboratorio se responsabiliza únicamente de los resultados emitidos los cuales corresponden a la muestra analizada y descrita en el presente documento.

El laboratorio declina toda responsabilidad, acerca de desvíos encontrados en las muestras entregadas por el cliente y que pueden afectar a la validez de los resultados, particular que es comunicado al cliente en caso de ser detectado por el laboratorio.

El tiempo de almacenamiento de los informes de resultados y toda la información técnica relacionada al mismo para dar trazabilidad será de 5 años a partir de su fecha de emisión. (Punto 8.4.2 CR GA01 Criterios Generales Acreditación de Laboratorios de Ensayo y Calibración según NTE INEN- ISO/IEC 17025:2018).

Quim. Mercedes Parra  
Jefe División  
Instrumental



EDMUNDO CHIRIBOGA N47-154 Y JORGE ANIBAL PAEZ  
La concepcion - QUITO - PICHINCHA - ECUADOR  
Telf: (02) 226 7895, 226 9743, 244 4670 / email: informes@multianalityca.com

INFORME DE RESULTADOS

INF.DIV-  
IN.58579a

**DATOS DEL CLIENTE**

<b>Cliente:</b>	NASTAR MARCILLO DIANA ALEXANDRA
<b>Dirección:</b>	SAN GABRIEL
<b>Teléfono:</b>	096 059 0517

**DATOS DE LA MUESTRA**

<b>Muestra de:</b>	ALIMENTO		
<b>Descripción:</b>	BEBIDA CON SUERO DE LECHE, JUGO DE FRUTAS FERMENTADA CON KÉFIR (TRAT.1)		
<b>Lote</b>	--	<b>Contenido Declarado:</b>	300mL
<b>Fecha de Elaboración:</b>	---	<b>Fecha de Vencimiento:</b>	---
<b>Fecha de Recepción:</b>	2022-01-11	<b>Hora de Recepción</b>	16:27:27
<b>Fecha de Análisis:</b>	2022-01-13	<b>Fecha de Emisión:</b>	2022-01-21
<b>Material de Envase:</b>	VIDRIO		
<b>Toma de Muestra realizada por:</b>	El cliente.		
<b>Observaciones:</b>	Los resultados reportados en el presente informe se refieren a los datos y las muestras entregadas por el cliente a nuestro laboratorio.		

**CARACTERISTICAS DE LA MUESTRA**

<b>Color:</b>	Característico.	<b>Olor:</b>	Característico.
<b>Estado:</b>	Líquido.	<b>Conservación:</b>	Refrigeración
<b>Temperatura de la muestra:</b>	5°C		

**RESULTADOS INSTRUMENTAL**

PARAMETROS	RESULTADO	UNIDAD	METODO DE ANALISIS INTERNO	METODO DE ANALISIS DE REFERENCIA
° <sup>s</sup> VISCOSIDAD	4.17	cPs; T: 25 °C; Spindle 02; Torque 09; 100 rpm	MIN-29	Norma Covenin 2181 Brookfield/ Viscosímetro capilar
GRADO ALCOHOLICO	2.14	°GL	MIN-06	USP 35 <611> 2012. (Cromatografía de gases-FID)

**Nota 1:** °<sup>s</sup>Los resultados / la información, no forman parte del alcance de acreditación de Multianalityca S.A., y fueron suministrados por N° SAE LEN 12-001, que no está acreditado para realizar dicha actividad.

Se prohíbe la reproducción del presente informe de resultados, excepto en su totalidad previa autorización escrita de Multianalityca S.A.

Cualquier información adicional correspondiente a los ensayos está a disposición del cliente cuando lo solicite.

El Tiempo de Retención de las Muestras en el Laboratorio a partir de la fecha de ingreso será de 15 días para muestras perecibles y 1 mes calendario para muestras medianamente perecibles y estables. Muestras para análisis microbiológicos 5 días laborables a partir de la fecha de análisis, posterior a este tiempo, el laboratorio no podrá realizar reensayos para verificación de datos o valores no conformes por parte del cliente.

Toda la información relacionada con datos del cliente e ítems de ensayo (muestras) y que pueda afectar a la validez de los resultados, ha sido proporcionada y son responsabilidad exclusiva del cliente. El laboratorio se responsabiliza únicamente de los resultados emitidos los cuales corresponden a la muestra analizada y descrita en el presente documento.

El laboratorio declina toda responsabilidad, acerca de desvíos encontrados en las muestras entregadas por el cliente y que pueden afectar a la validez de los resultados, particular que es comunicado al cliente en caso de ser detectado por el laboratorio.

El tiempo de almacenamiento de los informes de resultados y toda la información técnica relacionada al mismo para dar trazabilidad será de 5 años a partir de su fecha de emisión. (Punto 8.4.2 CR GA01 Criterios Generales Acreditación de Laboratorios de Ensayo y Calibración según NTE INEN- ISO/IEC 17025:2018).



Quim. Mercedes Parra  
Jefe División  
Instrumental

EDMUNDO CHIRIBOGA N47-154 Y JORGE ANIBAL PAEZ  
La concepcion - QUITO - PICHINCHA - ECUADOR

Telf: (02) 226 7895, 226 9743, 244 4670 / email: informes@multianalityca.com



## Anexo 7. Resultados fisicoquímicos de la bebida optima 2.



### INFORME DE RESULTADOS

INF-DIV-  
FQ.58598a

#### DATOS DEL CLIENTE

<b>Cliente:</b>	NASTAR MARCILLO DIANA ALEXANDRA
<b>Dirección:</b>	SAN GABRIEL
<b>Teléfono:</b>	096 059 0517

#### DATOS DE LA MUESTRA

<b>Muestra de:</b>	ALIMENTO		
<b>Descripción:</b>	BEBIDA CON SUERO DE LECHE, JUGO DE FRUTAS FERMENTADA CON KÉFIR (TRAT.2)		
<b>Lote</b>	---	<b>Contenido Declarado:</b>	300mL
<b>Fecha de Elaboración:</b>	---	<b>Fecha de Vencimiento:</b>	---
<b>Fecha de Recepción:</b>	2022-01-11	<b>Hora de Recepción</b>	16:24:40
<b>Fecha de Análisis:</b>	2022-01-12	<b>Fecha de Emisión:</b>	2022-01-14
<b>Material de Envase:</b>	VIDRIO		
<b>Toma de Muestra realizada por:</b>	El cliente.		
<b>Observaciones:</b>	Los resultados reportados en el presente informe se refieren a los datos y las muestras entregadas por el cliente a nuestro laboratorio.		

#### CARACTERISTICAS DE LA MUESTRA

<b>Color:</b>	Característico.	<b>Olor:</b>	Característico.
<b>Estado:</b>	Líquido.	<b>Conservación:</b>	Refrigeración
<b>Temperatura de la muestra:</b>	5°C		

#### RESULTADOS FISICOQUÍMICO

PARAMETROS	RESULTADO	UNIDAD	METODO DE ANALISIS INTERNO	METODO DE ANALISIS DE REFERENCIA
<sup>1</sup> *PROTEINA	0.93	(F: 6.25) %	MFQ-01	AOAC 2001.11/ Volumetría, Kjeldahl
<sup>1</sup> *GRASA	0.44	%	MFQ-02	AOAC 2003.06/ Gravimetría, Soxhlet
ACIDEZ	0.73	% ácido láctico	MFQ-07	AOAC 947.05/ Volumetría

**Nota 1:** Laboratorio de ensayo acreditado por el SAE con acreditación N° SAE LEN 09-008.

**Nota 2:** <sup>1</sup>\* "El ensayo marcado con (<sup>1</sup>\*) se encuentra acreditado en la matriz correspondiente, pero está fuera del rango acreditado por el SAE".

Se prohíbe la reproducción del presente informe de resultados, excepto en su totalidad previa autorización escrita de Multianalityca S.A.

Cualquier información adicional correspondiente a los ensayos está a disposición del cliente cuando lo solicite.

El Tiempo de Retención de las Muestras en el Laboratorio a partir de la fecha de ingreso será de 15 días para muestras perecibles y 1 mes calendario para muestras medianamente perecibles y estables. Muestras para análisis microbiológicos 5 días laborables a partir de la fecha de análisis, posterior a este tiempo, el laboratorio no podrá realizar reensayos para verificación de datos o valores no conformes por parte del cliente.

Toda la información relacionada con datos del cliente e ítems de ensayo (muestras) y que pueda afectar a la validez de los resultados, ha sido proporcionada y son responsabilidad exclusiva del cliente. El laboratorio se responsabiliza únicamente de los resultados emitidos los cuales corresponden a la muestra analizada y descrita en el presente documento.

El laboratorio declina toda responsabilidad, acerca de desvíos encontrados en las muestras entregadas por el cliente y que pueden afectar a la validez de los resultados, particular que es comunicado al cliente en caso de ser detectado por el laboratorio.

El tiempo de almacenamiento de los informes de resultados y toda la información técnica relacionada al mismo para dar trazabilidad será de 5 años a partir de su fecha de emisión. (Punto 8.4.2 CR GA01 Criterios Generales Acreditación de Laboratorios de Ensayo y Calibración según NTE INEN- ISO/IEC 17025:2018).

Quim. Mercedes Parra  
Jefe División  
Instrumental



EDMUNDO CHIRIBOGA N47-154 Y JORGE ANIBAL PAEZ  
La concepcion - QUITO - PICHINCHA - ECUADOR  
Telf: (02) 226 7895, 226 9743, 244 4670 / email: informes@multianalityca.com

**DATOS DEL CLIENTE**

<b>Cliente:</b>	NASTAR MARCILLO DIANA ALEXANDRA
<b>Dirección:</b>	SAN GABRIEL
<b>Teléfono:</b>	096 059 0517

**DATOS DE LA MUESTRA**

<b>Muestra de:</b>	ALIMENTO		
<b>Descripción:</b>	BEBIDA CON SUERO DE LECHE, JUGO DE FRUTAS FERMENTADA CON KÉFIR (TRAT.2)		
<b>Lote</b>	--	<b>Contenido Declarado:</b>	300mL
<b>Fecha de Elaboración:</b>	---	<b>Fecha de Vencimiento:</b>	---
<b>Fecha de Recepción:</b>	2022-01-11	<b>Hora de Recepción</b>	16:27:27
<b>Fecha de Análisis:</b>	2022-01-13	<b>Fecha de Emisión:</b>	2022-01-21
<b>Material de Envase:</b>	VIDRIO		
<b>Toma de Muestra realizada por:</b>	El cliente.		
<b>Observaciones:</b>	Los resultados reportados en el presente informe se refieren a los datos y las muestras entregadas por el cliente a nuestro laboratorio.		

**CARACTERISTICAS DE LA MUESTRA**

<b>Color:</b>	Característico.	<b>Olor:</b>	Característico.
<b>Estado:</b>	Líquido.	<b>Conservación:</b>	Refrigeración
<b>Temperatura de la muestra:</b>	5°C		

**RESULTADOS INSTRUMENTAL**

PARAMETROS	RESULTADO	UNIDAD	METODO DE ANALISIS INTERNO	METODO DE ANALISIS DE REFERENCIA
°VISCOSIDAD	7.2	cPs; T: 25 °C; Spindle 02; Torque 09; 100 rpm	MIN-29	Norma Covenin 2181 Brookfield/ Viscosímetro capilar
GRADO ALCOHOLICO	0.51	°GL	MIN-06	USP 35 <611> 2012. (Cromatografía de gases-FID)
LACTOSA	2.85	%	MIN-93	AOAC 982.14/HPLC-RI

**Nota 1:** ° Los resultados / la información, no forman parte del alcance de acreditación de Multianalityca S.A., y fueron suministrados por N° SAE LEN 12-001, que no está acreditado para realizar dicha actividad.

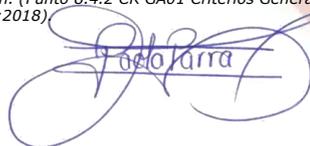
Se prohíbe la reproducción del presente informe de resultados, excepto en su totalidad previa autorización escrita de Multianalityca S.A.

Cualquier información adicional correspondiente a los ensayos está a disposición del cliente cuando lo solicite. El tiempo de Retención de las Muestras en el Laboratorio a partir de la fecha de ingreso será de 15 días para muestras perecibles y 1 mes calendario para muestras medianamente perecibles y estables. Muestras para análisis microbiológicos 5 días laborables a partir de la fecha de análisis, posterior a este tiempo, el laboratorio no podrá realizar reensayos para verificación de datos o valores no conformes por parte del cliente.

Toda la información relacionada con datos del cliente e ítems de ensayo (muestras) y que pueda afectar a la validez de los resultados, ha sido proporcionada y son responsabilidad exclusiva del cliente. El laboratorio se responsabiliza únicamente de los resultados emitidos los cuales corresponden a la muestra analizada y descrita en el presente documento.

El laboratorio declina toda responsabilidad, acerca de desvíos encontrados en las muestras entregadas por el cliente y que pueden afectar a la validez de los resultados, particular que es comunicado al cliente en caso de ser detectado por el laboratorio.

El tiempo de almacenamiento de los informes de resultados y toda la información técnica relacionada al mismo para dar trazabilidad será de 5 años a partir de su fecha de emisión. (Punto 8.4.2 CR GA01 Criterios Generales Acreditación de Laboratorios de Ensayo y Calibración según NTE INEN- ISO/IEC 17025:2018)



Quim. Mercedes Parra  
Jefe División  
Instrumental

EDMUNDO CHIRIBOGA N47-154 Y JORGE ANIBAL PAEZ  
La concepcion - QUITO - PICHINCHA - ECUADOR  
Telf: (02) 226 7895, 226 9743, 244 4670 / email: informes@multianalityca.com



## Anexo 8. Resultados fisicoquímicos de la bebida optima 3.



### INFORME DE RESULTADOS

INF.DIV-  
FQ.58599a

#### DATOS DEL CLIENTE

<b>Cliente:</b>	NASTAR MARCILLO DIANA ALEXANDRA
<b>Dirección:</b>	SAN GABRIEL
<b>Teléfono:</b>	096 059 0517

#### DATOS DE LA MUESTRA

<b>Muestra de:</b>	ALIMENTO		
<b>Descripción:</b>	BEBIDA CON SUERO DE LECHE, JUGO DE FRUTAS FERMENTADA CON KÉFIR (TRAT.3)		
<b>Lote</b>	---	<b>Contenido Declarado:</b>	300mL
<b>Fecha de Elaboración:</b>	---	<b>Fecha de Vencimiento:</b>	---
<b>Fecha de Recepción:</b>	2022-01-11	<b>Hora de Recepción</b>	16:24:40
<b>Fecha de Análisis:</b>	2022-01-12	<b>Fecha de Emisión:</b>	2022-01-14
<b>Material de Envase:</b>	VIDRIO		
<b>Toma de Muestra realizada por:</b>	El cliente.		
<b>Observaciones:</b>	Los resultados reportados en el presente informe se refieren a los datos y las muestras entregadas por el cliente a nuestro laboratorio.		

#### CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA

<b>Color:</b>	Característico.	<b>Olor:</b>	Característico.
<b>Estado:</b>	Líquido.	<b>Conservación:</b>	Refrigeración
<b>Temperatura de la muestra:</b>	5°C		

#### RESULTADOS FISICOQUÍMICO

PARAMETROS	RESULTADO	UNIDAD	METODO DE ANALISIS INTERNO	METODO DE ANALISIS DE REFERENCIA
<sup>1</sup> *PROTEINA	0.42	(F: 6.25) %	MFQ-01	AOAC 2001.11/ Volumetría, Kjeldahl
<sup>1</sup> *GRASA	0.23	%	MFQ-02	AOAC 2003.06/ Gravimetría, Soxhlet
ACIDEZ	0.54	% ácido láctico	MFQ-07	AOAC 947.05/ Volumetría

**Nota 1:** Laboratorio de ensayo acreditado por el SAE con acreditación N° SAE LEN 09-008.

**Nota 2:** <sup>1</sup>\* "El ensayo marcado con (<sup>1</sup>\*) se encuentra acreditado en la matriz correspondiente, pero está fuera del rango acreditado por el SAE".

Se prohíbe la reproducción del presente informe de resultados, excepto en su totalidad previa autorización escrita de Multianalityca S.A.

Cualquier información adicional correspondiente a los ensayos está a disposición del cliente cuando lo solicite.

El Tiempo de Retención de las Muestras en el Laboratorio a partir de la fecha de ingreso será de 15 días para muestras perecibles y 1 mes calendario para muestras medianamente perecibles y estables. Muestras para análisis microbiológicos 5 días laborables a partir de la fecha de análisis, posterior a este tiempo, el laboratorio no podrá realizar reensayos para verificación de datos o valores no conformes por parte del cliente.

Toda la información relacionada con datos del cliente e ítems de ensayo (muestras) y que pueda afectar a la validez de los resultados, ha sido proporcionada y son responsabilidad exclusiva del cliente. El laboratorio se responsabiliza únicamente de los resultados emitidos los cuales corresponden a la muestra analizada y descrita en el presente documento.

El laboratorio declina toda responsabilidad, acerca de desvíos encontrados en las muestras entregadas por el cliente y que pueden afectar a la validez de los resultados, particular que es comunicado al cliente en caso de ser detectado por el laboratorio.

El tiempo de almacenamiento de los informes de resultados y toda la información técnica relacionada al mismo para dar trazabilidad será de 5 años a partir de su fecha de emisión. (Punto 8.4.2 CR GA01 Criterios Generales Acreditación de Laboratorios de Ensayo y Calibración según NTE INEN- ISO/IEC 17025:2018).

Quim. Mercedes Parra  
Jefe División  
Instrumental



EDMUNDO CHIRIBOGA N47-154 Y JORGE ANIBAL PAEZ  
La concepcion - QUITO - PICHINCHA - ECUADOR  
Telf: (02) 226 7895, 226 9743, 244 4670 / email: informes@multianalityca.com

**DATOS DEL CLIENTE**

<b>Cliente:</b>	NASTAR MARCILLO DIANA ALEXANDRA
<b>Dirección:</b>	SAN GABRIEL
<b>Teléfono:</b>	096 059 0517

**DATOS DE LA MUESTRA**

<b>Muestra de:</b>	ALIMENTO		
<b>Descripción:</b>	BEBIDA CON SUERO DE LECHE, JUGO DE FRUTAS FERMENTADA CON KÉFIR (TRAT.3)		
<b>Lote</b>	--	<b>Contenido Declarado:</b>	300mL
<b>Fecha de Elaboración:</b>	---	<b>Fecha de Vencimiento:</b>	---
<b>Fecha de Recepción:</b>	2022-01-11	<b>Hora de Recepción</b>	16:27:27
<b>Fecha de Análisis:</b>	2022-01-13	<b>Fecha de Emisión:</b>	2022-01-21
<b>Material de Envase:</b>	VIDRIO		
<b>Toma de Muestra realizada por:</b>	El cliente.		
<b>Observaciones:</b>	Los resultados reportados en el presente informe se refieren a los datos y las muestras entregadas por el cliente a nuestro laboratorio.		

**CARACTERISTICAS DE LA MUESTRA**

<b>Color:</b>	Característico.	<b>Olor:</b>	Característico.
<b>Estado:</b>	Líquido.	<b>Conservación:</b>	Refrigeración
<b>Temperatura de la muestra:</b>	5°C		

**RESULTADOS INSTRUMENTAL**

PARAMETROS	RESULTADO	UNIDAD	METODO DE ANALISIS INTERNO	METODO DE ANALISIS DE REFERENCIA
°S VISCOSIDAD	4.63	cPs; T: 25 °C; Spindle 02; Torque 09; 100 rpm	MIN-29	Norma Covenin 2181 Brookfield/ Viscosímetro capilar
GRADO ALCOHOLICO	2.05	°GL	MIN-06	USP 35 <611> 2012. (Cromatografía de gases-FID)
LACTOSA	0.77	%	MIN-93	AOAC 982.14/HPLC-RI

**Nota 1:** °S Los resultados / la información, no forman parte del alcance de acreditación de Multianalityca S.A., y fueron suministrados por N° SAE LEN 12-001, que no está acreditado para realizar dicha actividad.

Se prohíbe la reproducción del presente informe de resultados, excepto en su totalidad previa autorización escrita de Multianalityca S.A.

Cualquier información adicional correspondiente a los ensayos está a disposición del cliente cuando lo solicite.

El Tiempo de Retención de las Muestras en el Laboratorio a partir de la fecha de ingreso será de 15 días para muestras perecibles y 1 mes calendario para muestras medianamente perecibles y estables. Muestras para análisis microbiológicos 5 días laborables a partir de la fecha de análisis, posterior a este tiempo, el laboratorio no podrá realizar reensayos para verificación de datos o valores no conformes por parte del cliente.

Toda la información relacionada con datos del cliente e ítems de ensayo (muestras) y que pueda afectar a la validez de los resultados, ha sido proporcionada y son responsabilidad exclusiva del cliente. El laboratorio se responsabiliza únicamente de los resultados emitidos los cuales corresponden a la muestra analizada y descrita en el presente documento.

El laboratorio declina toda responsabilidad, acerca de desvíos encontrados en las muestras entregadas por el cliente y que pueden afectar a la validez de los resultados, particular que es comunicado al cliente en caso de ser detectado por el laboratorio.

El tiempo de almacenamiento de los informes de resultados y toda la información técnica relacionada al mismo para dar trazabilidad será de 5 años a partir de su fecha de emisión. (Punto 8.4.2 CR GA01 Criterios Generales Acreditación de Laboratorios de Ensayo y Calibración según NTE INEN- ISO/IEC 17025:2018).

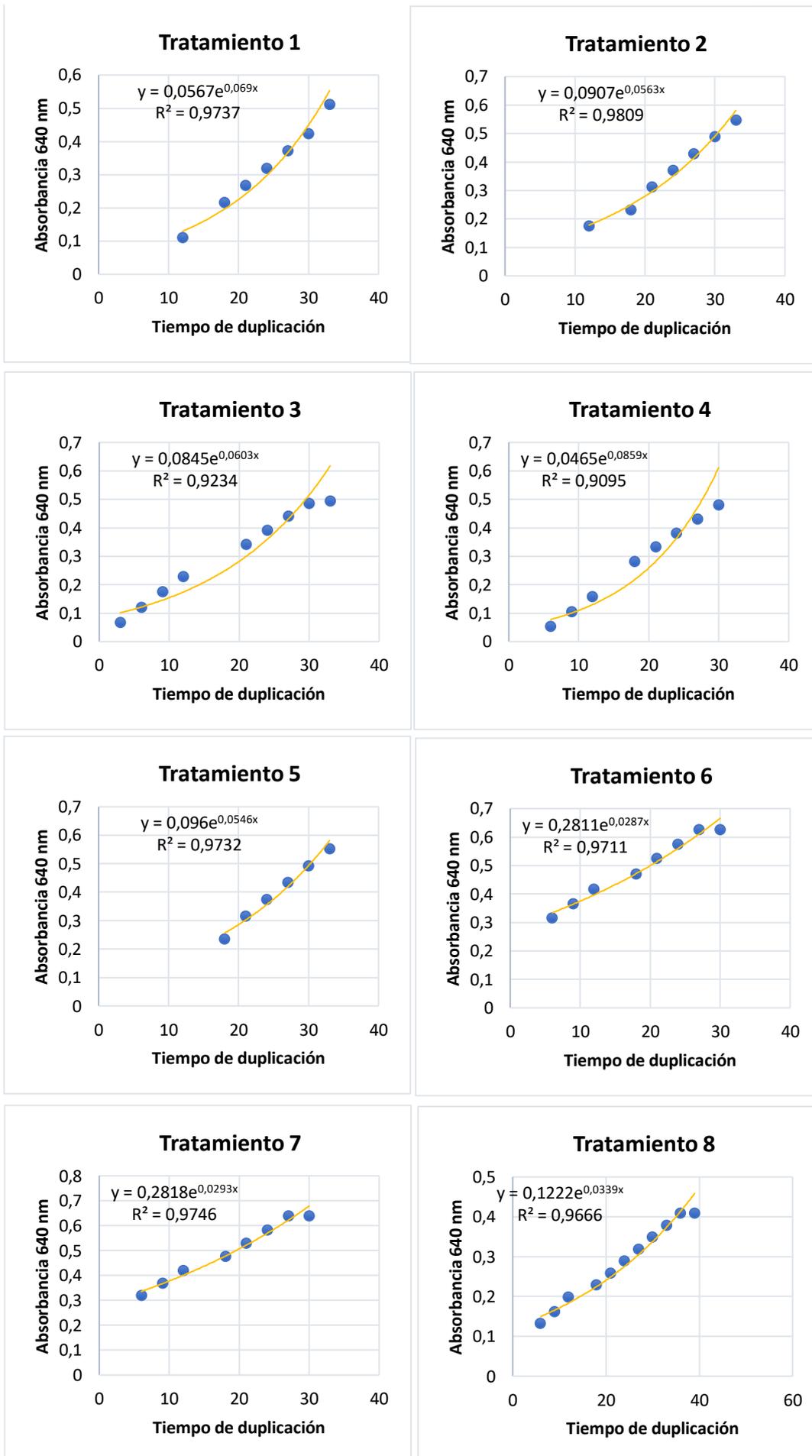


Quim. Mercedes Parra  
Jefe División  
Instrumental

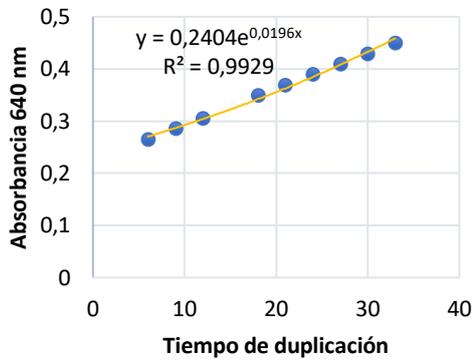


EDMUNDO CHIRIBOGA N47-154 Y JORGE ANIBAL PAEZ  
La concepcion - QUITO - PICHINCHA - ECUADOR  
Telf: (02) 226 7895, 226 9743, 244 4670 / email: informes@multianalityca.com

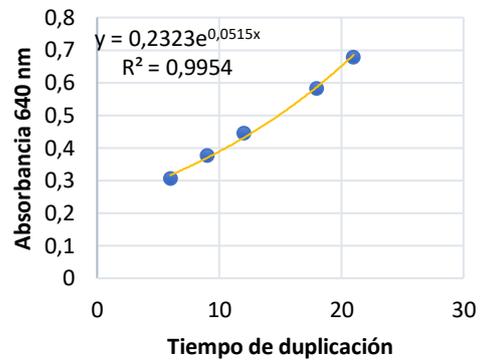
**Anexo 9.** Gráficas de los tiempos de fermentación en cada tratamiento.



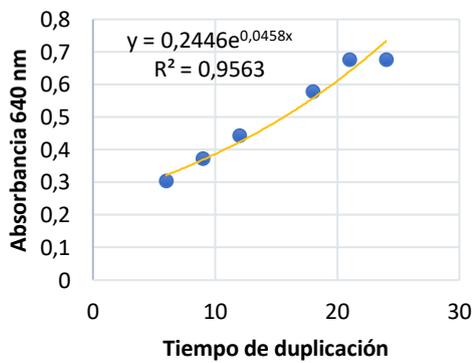
**Tratamiento 9**



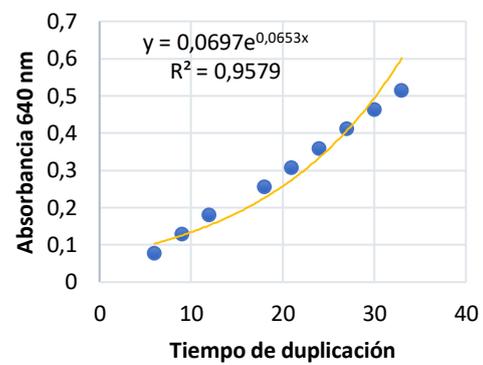
**Tratamiento 10**



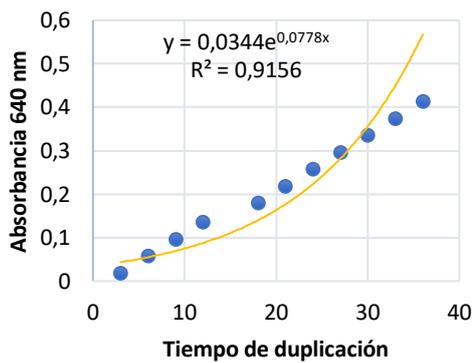
**Tratamiento 11**



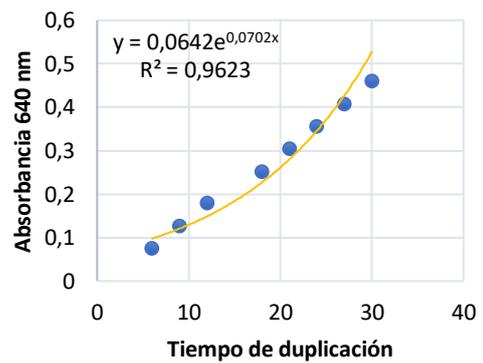
**Tratamiento 12**



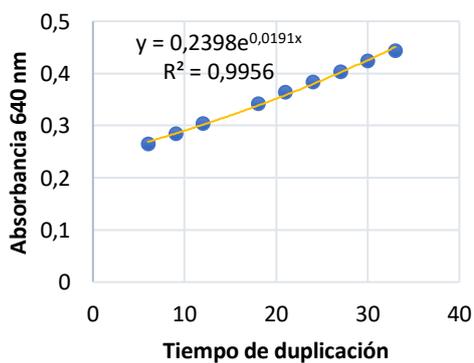
**Tratamiento 13**



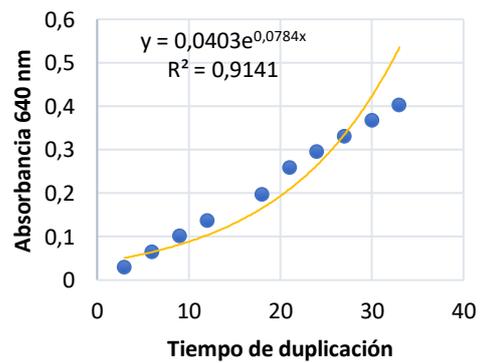
**Tratamiento 14**

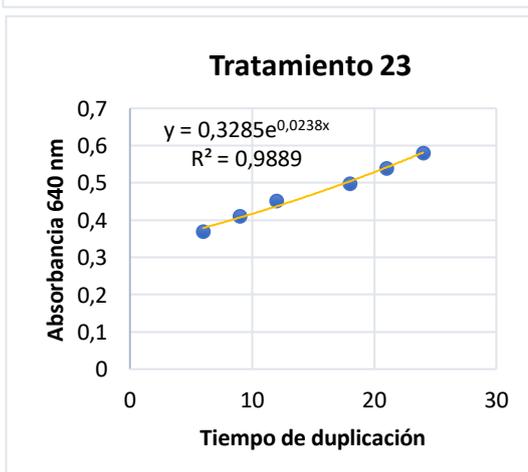
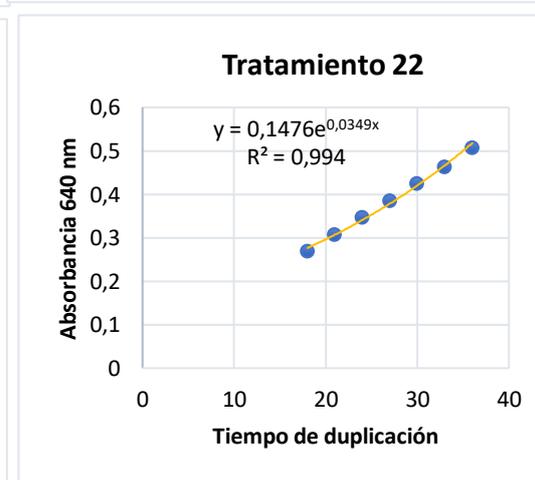
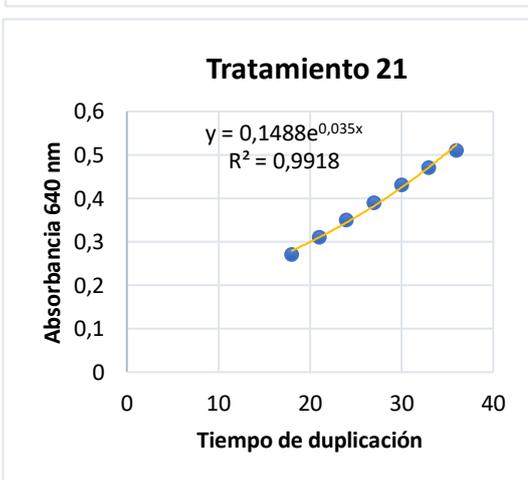
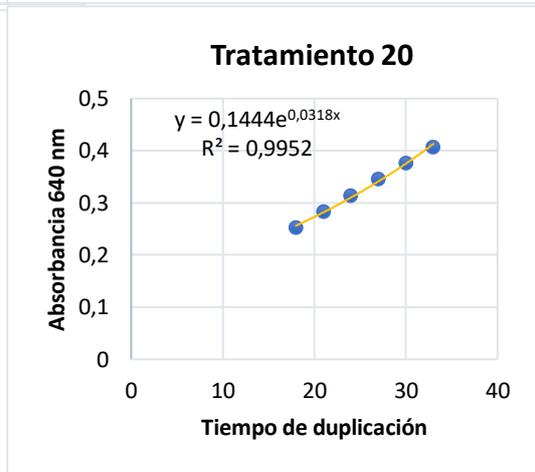
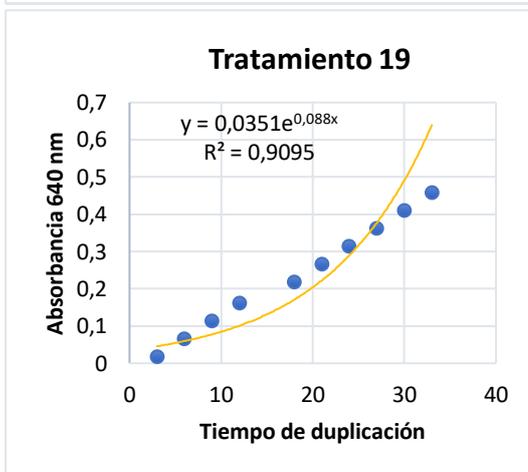
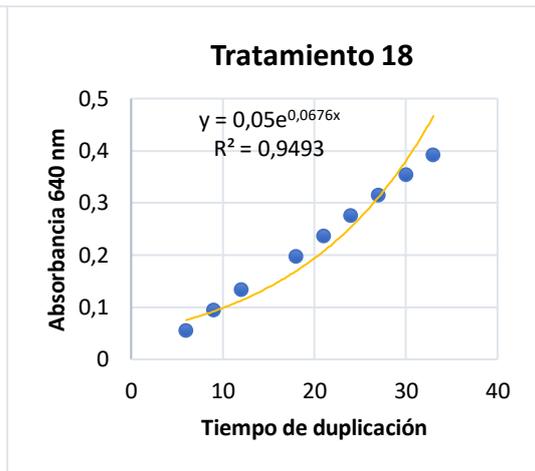
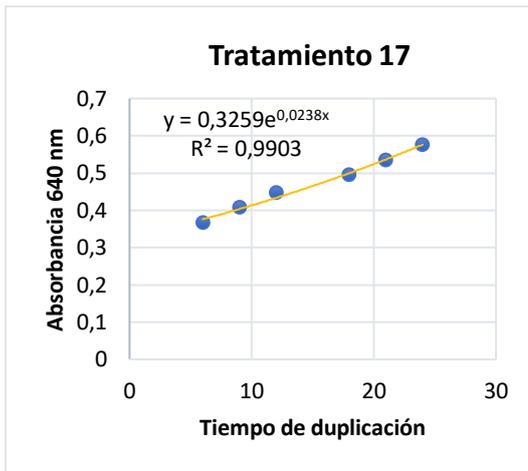


**Tratamiento 15**



**Tratamiento 16**





**Anexo 10. Ficha de degustación general para los 23 tratamientos.**

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE**

EVALUACIÓN SENSORIAL DE UNA BEBIDA FERMENTADA



Nombre: .....

Fecha: .....

**Instrucciones:** A continuación, se le presenta la muestra de una bebida funcional. Observe y pruebe la bebida. Seleccione el nivel de acuerdo con el umbral que usted lo considere adecuado. Siendo la escala de 1(- aceptable) a 7 (+ aceptable).

BEBIDAS	OLOR	COLOR	SABOR	TEXTURA	ACEPTABILIDAD GENERAL
T1					
T2					
T3					
T4					
T5					
T6					
T7					
T8					
T9					
T10					
T11					
T12					
T13					
T14					
T15					
T16					
T17					
T18					
T19					
T20					
T21					
T22					
T23					

**Anexo 11. Ficha de degustación específica para la bebida óptima.**

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE**

EVALUACIÓN SENSORIAL DE UNA BEBIDA FERMENTADA



Nombre: .....

Fecha: .....

**Instrucciones:** A continuación, se le presenta la muestra de una bebida funcional. Observe y pruebe la bebida. Seleccione el nivel de acuerdo con el umbral que usted lo considere adecuado.



	CARACTERÍSTICA	PUNTUACIÓN
<b>FASE VISUAL</b>	TURBIO	
	BRILLANTE	
	HOMOGENEO	
	BLANCO	
	NARANJA	
	ROJIZO	
<b>FASE GUSTATIVA</b>	LIGERO	
	VISCOSO	
	CREMOSO	
	DULCE	
	AMARGO	
	ÁCIDO	
<b>FASE OLFATIVA</b>	SUERO LÁCTEO	
	AFRUTADO	
	ÁCIDO	

Observaciones.....  
 .....  
 .....  
 .....  
 .....