



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS**  
**CARRERA AGROINDUSTRIA**

**“ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA PROBIÓTICA A BASE DE  
CHIRIMOYA (*Annona cherimola*), PEPINO DULCE (*Solanum  
muricatum*) Y KOMBUCHA”**

**Trabajo de Integración Curricular**

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

**INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**AUTOR:**

**LUIS ANDRÉS MONTERO MONGÓN**

Riobamba – Ecuador

2022



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS**  
**CARRERA AGROINDUSTRIA**

**“ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA PROBIÓTICA A BASE DE  
CHIRIMOYA (*Annona cherimola*), PEPINO DULCE (*Solanum  
muricatum*) Y KOMBUCHA”**

**Trabajo de Integración Curricular**

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

**INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**AUTOR:** LUIS ANDRÉS MONTERO MONGÓN

**DIRECTOR:** Ing. BYRON LEONCIO DÍAZ MONROY, PhD

Riobamba – Ecuador

2022

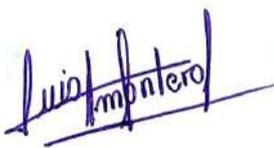
© 2022, Luis Andrés Montero Mongón

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

Yo, Luis Andrés Montero Mongón, declaro que el presente trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

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

Riobamba, 07 de diciembre de 2022

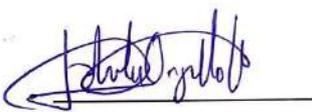


**Luis Andrés Montero Mongón**

**172557123-4**

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS**  
**CARRERA AGROINDUSTRIA**

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; Tipo: Trabajo Experimental, “**ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA PROBIÓTICA A BASE DE CHIRIMOYA (*Annona cherimola*), PEPINO DULCE (*Solanum muricatum*) Y KOMBUCHA**”, realizado por el señor: **LUIS ANDRÉS MONTERO MONGÓN**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	<b>FIRMA</b>	<b>FECHA</b>
Ing. Paola Arguello Hernández, M.Sc. <b>PRESIDENTE DEL TRIBUNAL</b>		2022-12-07
Ing. Byron Leoncio Díaz Monroy, PhD <b>DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR</b>		2022-12-07
Dr. Juan Marcelo Ramos Flores, M.Sc. <b>ASESOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR</b>		2022-12-07

## **DEDICATORIA**

A Dios y a mi Ángel de la guardia, por siempre cuidarme y guiar mis pasos durante toda mi vida, a mis Amados Padres, Luis Montero y Mónica Mongón, por siempre apoyarme en los momentos más difíciles de mi vida y siempre darme el aliento para seguir adelante y cumplir mis sueños, a mis queridos hermanos, Javier, Milton y Paola Montero, por ser el motivo de seguir cada día luchando y poder ser algún día un ejemplo para ellos, a mi querida novia Erika Merchán, por ser la persona que desde que comencé la carrera, siempre me apoyó, me dio la fuerza necesaria para no dejarme vencer en los malos momentos y por confiar siempre en mí. A mis abuelos, tíos, primos y demás familiares por ser parte fundamental en mi vida, gracias a su buen consejo y finalmente a mis amigas por el apoyo y los consejos recibidos y por los momentos alegres que hemos compartido durante toda nuestra etapa de aprendizaje.

Luis

## **AGRADECIMIENTO**

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, especialmente a la Facultad de Ciencias Pecuarias por haberme abierto las puertas para mi educación y formación de calidad y poder convertirme en un profesional, al Ing. Byron Díaz Ph. D, al Ing Enrique Vayas, M Sc., y al Dr. Juan Marcelo Ramos Flores, M.Sc. como director y miembro de mi trabajo de titulación, les agradezco infinitamente por el apoyo brindado, por los conocimientos impartidos y los consejos dados, siempre los tomaré en cuenta y los valoraré por todo el tiempo invertido en mí. Además, agradezco a los técnicos docentes y todos aquellos maestros que cursaron por mi etapa de aprendizaje, por cada consejo recibido, los tomaré en cuenta y pondré en práctica.

Luis

## TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS .....	xii
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES .....	xii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiii
RESUMEN.....	xv
ABSTRACT.....	xvii
INTRODUCCIÓN.....	1

### CAPITULO I

<b>1</b>	<b>DIAGNÓSTICO DEL PROBLEMA .....</b>	<b>3</b>
<b>1.1</b>	<b>Antecedentes.....</b>	<b>3</b>
<b>1.2</b>	<b>Planteamiento del problema.....</b>	<b>4</b>
<b>1.3</b>	<b>Justificación.....</b>	<b>5</b>
<b>1.4</b>	<b>Objetivos.....</b>	<b>6</b>
<b>1.4.1</b>	<b><i>Objetivo General.....</i></b>	<b>6</b>
<b>1.4.2</b>	<b><i>Objetivos Específicos .....</i></b>	<b>6</b>

### CAPITULO II

<b>2</b>	<b>MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>7</b>
<b>2.1</b>	<b>Antecedentes de Investigación.....</b>	<b>7</b>
<b>2.2</b>	<b>Referencias teóricas.....</b>	<b>11</b>
<b>2.2.1</b>	<b><i>Probióticos .....</i></b>	<b>11</b>
<b>2.2.2</b>	<b><i>Requisitos de los microorganismos para considerarse probióticos .....</i></b>	<b>11</b>
<b>2.2.2.1</b>	<b><i>Requerimiento de seguridad .....</i></b>	<b>11</b>
<b>2.2.2.2</b>	<b><i>Características funcionales.....</i></b>	<b>11</b>
<b>2.2.2.3</b>	<b><i>Aspectos tecnológicos .....</i></b>	<b>11</b>
<b>2.2.3</b>	<b><i>Microorganismos probióticos.....</i></b>	<b>12</b>
<b>2.2.4</b>	<b><i>Productos probióticos a base de frutas .....</i></b>	<b>13</b>
<b>2.2.5</b>	<b><i>Beneficios de los probióticos .....</i></b>	<b>13</b>
<b>2.2.6</b>	<b><i>Mecanismos de acción de los probióticos .....</i></b>	<b>14</b>
<b>2.3</b>	<b>Kombucha .....</b>	<b>15</b>
<b>2.3.1</b>	<b><i>Origen .....</i></b>	<b>15</b>

2.3.2	<b>Scoby</b> .....	16
2.3.3	<b>Composición microbiológica de la kombucha</b> .....	16
2.3.4	<b>Composición química de la Kombucha</b> .....	20
2.3.4.1	Ácido glucurónico .....	21
2.3.4.2	Ácido glucónico.....	22
2.3.4.3	Ácido acético.....	22
2.3.5	<b>Fermentación</b> .....	22
2.3.5.1	Fermentación alcohólica .....	23
2.3.5.2	Fermentación acética.....	24
2.3.5.3	Fermentación láctica .....	24
2.3.6	<b>Puntos críticos en la fermentación de kombucha</b> .....	25
2.3.6.1	Sustrato .....	25
2.3.6.2	Temperatura.....	26
2.3.6.3	Tiempo.....	26
2.3.6.4	Sacarosa.....	27
2.3.6.5	pH.....	27
2.3.6.6	Ambiente selectivo.....	28
2.3.7	<b>Preparación de la kombucha</b> .....	29
2.3.7.1	Preparación de la infusión de té .....	29
2.3.7.2	Endulzado de la infusión.....	29
2.3.7.3	Adición de kombucha madre o cultivo iniciador .....	30
2.3.7.4	Adición del scoby .....	31
2.3.7.5	Periodo de cultivo y fermentación .....	31
2.3.7.6	Filtrado .....	31
2.3.7.7	Envasado.....	32
2.3.8	<b>Actividad antibacterial</b> .....	33
2.3.9	<b>Beneficios de la kombucha</b> .....	34
2.4	<b>Chirimoya (<i>Annona cherimola</i>)</b> .....	34
2.4.1	<b>Taxonomía</b> .....	35
2.4.2	<b>Composición nutricional</b> .....	35
2.4.3	<b>Compuestos bioactivos</b> .....	36
2.4.3.1	Compuestos fenólicos.....	36
2.4.3.2	Flavonoides.....	36
2.4.3.3	Ácido ascórbico.....	37
2.5	<b>Pepino dulce (<i>Solanum muricatum</i>)</b> .....	37
2.5.1	<b>Taxonomía</b> .....	37

2.5.2	<i>Composición nutricional</i> .....	38
2.5.3	<i>Compuestos bioactivos</i> .....	39
2.5.3.1	<i>Compuestos fenólicos</i> .....	39
2.5.4	<i>Beneficios</i> .....	39

### CAPÍTULO III

3	<b>MARCO METODOLÓGICO</b> .....	40
3.1	<b>Localización y duración del experimento</b> .....	40
3.2	<b>Unidades experimentales</b> .....	40
3.3	<b>Materiales, equipos e insumos</b> .....	40
3.3.1	<i>Materiales</i> .....	40
3.3.2	<i>Equipos</i> .....	41
3.3.3	<i>Insumos</i> .....	42
3.4	<b>Tratamientos y diseño experimental</b> .....	42
3.4.1	<i>Tratamientos</i> .....	42
3.4.2	<i>Diseño experimental</i> .....	43
3.5	<b>Mediciones experimentales</b> .....	43
3.5.1	<i>Análisis fisicoquímico</i> .....	43
3.5.2	<i>Análisis microbiológico</i> .....	43
3.5.3	<i>Análisis organoléptico</i> .....	44
3.5.4	<i>Análisis económico</i> .....	44
3.6	<b>Análisis estadístico y prueba de significancia</b> .....	44
3.7	<b>Procedimiento experimental</b> .....	45
3.7.1	<i>Elaboración de la bebida probiótica a base de pulpa de chirimoya (Annona cherimola)</i> .....	45
3.8	<b>Metodología de evaluación</b> .....	48
3.8.1	<i>Análisis fisicoquímico</i> .....	48
3.8.1.1	<i>Determinación de pH</i> .....	48
3.8.1.2	<i>Determinación de sólidos solubles</i> .....	48
3.8.1.3	<i>Determinación del acidez titulable</i> .....	49
3.8.1.4	<i>Determinación del % alcohol</i> .....	49
3.8.2	<i>Análisis microbiológico</i> .....	50
3.8.2.1	<i>Siembra</i> .....	50
3.8.2.2	<i>Incubación y conteo</i> .....	51
3.8.2.3	<i>Recuento de Coliformes Totales (UFC/ml)</i> .....	52

3.8.2.4	<i>Recuento de Escherichia coli (UFC/ml)</i> .....	52
3.8.2.5	<i>Recuento de mohos y levaduras (UFC/ml)</i> .....	53
3.8.2.6	<i>Conteo de bacterias probióticas (UFC/ml)</i> .....	53
3.8.3	<i>Análisis organoléptico</i> .....	53
3.8.4	<i>Análisis económico</i> .....	53
3.8.4.2	<i>Costo de producción</i> .....	53
3.8.4.3	<i>Beneficio/Costo (B/C)</i> .....	53

## CAPITULO IV

4	<b>MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS</b> .....	54
4.1	<b>Análisis bromatológico</b> .....	54
4.1.1.	<i>pH</i> .....	55
4.1.2	<i>Acidez (g/100ml ácido acético)</i> .....	56
4.1.3	<i>Sólidos solubles (°Brix)</i> .....	58
4.1.4	<i>% Alcohol</i> .....	59
4.2	<b>Análisis microbiológico</b> .....	61
4.2.1	<i>Escherichia coli</i> .....	61
4.2.2	<i>Coliformes totales</i> .....	62
4.2.3	<i>Bacterias probióticas</i> .....	62
4.2.4	<i>Mohos y levaduras</i> .....	65
4.2.4.1	<i>Mohos</i> .....	65
4.2.4.2	<i>Levaduras</i> .....	65
4.3	<b>Análisis organoléptico</b> .....	67
4.3.1	<i>Olor</i> .....	68
4.3.2	<i>Color</i> .....	68
4.3.3	<i>Sabor</i> .....	68
4.3.4	<i>Apariencia</i> .....	69
4.4	<b>Análisis económico</b> .....	69
4.4.1	<i>Costo de producción</i> .....	69
4.4.2	<i>Beneficio/Costo</i> .....	69
	<b>CONCLUSIONES</b> .....	71
	<b>RECOMENDACIONES</b> .....	72
	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	
	<b>ANEXOS</b>	

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-2:</b>	Principales microorganismos empleados como probióticos .....	12
<b>Tabla 2-2:</b>	Microorganismos presentes en la kombucha.....	17
<b>Tabla 3-2:</b>	Composición química de la kombucha.....	21
<b>Tabla 4-2:</b>	Clasificación taxonómica de la Chirimoya.....	35
<b>Tabla 5-2:</b>	Composición nutricional de la chirimoya.....	36
<b>Tabla 6-2:</b>	Clasificación taxonómica del pepino dulce .....	38
<b>Tabla 7-2:</b>	Composición nutricional del pepino dulce (100g).....	38
<b>Tabla 8-2:</b>	Contenido de compuestos fenólicos en el Pepino dulce .....	39
<b>Tabla 1-3:</b>	Esquema del experimento.....	42
<b>Tabla 2-3:</b>	Esquema del ADEVA.....	44
<b>Tabla 3-3:</b>	Formulación de la bebida probiótica con diferentes niveles de pulpa de chirimoya.....	45
<b>Tabla 4-3:</b>	Dosificación de la bebida probiótica con diferentes niveles de pulpa de chirimoya.....	45
<b>Tabla 1-4:</b>	Composición fisicoquímica de la bebida probiótica elaborada con diferentes niveles de pulpa de chirimoya.....	54
<b>Tabla 2-4:</b>	Análisis microbiológico de la bebida probiótica elaborada con diferentes niveles de pulpa de chirimoya .....	61
<b>Tabla 3-4:</b>	Valoración organoléptica de la bebida probiótica elaborada con diferentes niveles de pulpa de chirimoya .....	67
<b>Tabla 4-4:</b>	Análisis económico de la elaboración de la bebida probiótica con diferentes niveles de pulpa de chirimoya.....	70

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

<b>Ilustración 1-2:</b>	Mecanismo de acción de los probióticos.....	15
<b>Ilustración 2-2:</b>	Fermentación alcohólica.....	23
<b>Ilustración 3-2:</b>	Fermentación láctica.....	25
<b>Ilustración 4-2:</b>	Preparación de la infusión de té.....	29
<b>Ilustración 5-2:</b>	Adición de azúcar .....	30
<b>Ilustración 6-2:</b>	Incorporación de kombucha madre .....	30
<b>Ilustración 7-2:</b>	Adición del SCOBY .....	31
<b>Ilustración 8-2:</b>	Embotellado.....	32
<b>Ilustración 9-2:</b>	Chirimoya ( <i>Annona cherimola</i> ).....	35
<b>Ilustración 10-2:</b>	Pepino dulce ( <i>Solanum muricatum</i> ) .....	37
<b>Ilustración 1-3:</b>	Diagrama de flujo del proceso de elaboración de una bebida probiótica con diferentes niveles de pulpa de chirimoya .....	47
<b>Ilustración 1-4:</b>	pH de la bebida probiótica elaborada con diferentes niveles de pulpa de chirimoya.....	56
<b>Ilustración 2-4:</b>	Acidez de la bebida probiótica elaborada con diferentes niveles de pulpa de chirimoya.....	57
<b>Ilustración 3-4:</b>	Sólidos solubles de la bebida probiótica elaborada con diferentes niveles de pulpa de chirimoya .....	59
<b>Ilustración 4-4:</b>	Porcentaje de alcohol de la bebida probiótica elaborada con diferentes niveles de pulpa de chirimoya .....	60
<b>Ilustración 5-4:</b>	Bacterias probióticas en la bebida elaborada con diferentes niveles de pulpa de chirimoya .....	64
<b>Ilustración 6-4:</b>	Levaduras en la bebida elaborada con diferentes niveles de pulpa de chirimoya .....	66

## ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** FICHA DE PRUEBA AFECTIVA DE ESCALA HEDÓNICA
- ANEXO B:** RESULTADOS FÍSICOQUÍMICOS DE LA BEBIDA PROBIÓTICA ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CHIRIMOYA
- ANEXO C:** ESTADÍSTICO, pH DE LA BEBIDA PROBIÓTICA ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CHIRIMOYA
- ANEXO D:** ESTADÍSTICO, ACIDEZ DE LA BEBIDA PROBIÓTICA ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CHIRIMOYA
- ANEXO E:** ESTADÍSTICO, SÓLIDOS SOLUBLES DE LA BEBIDA PROBIÓTICA ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CHIRIMOYA
- ANEXO F:** ESTADÍSTICO, % ALCOHOL DE LA BEBIDA PROBIÓTICA ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CHIRIMOYA
- ANEXO G:** ESTADÍSTICO, BACTERIAS PROBIÓTICAS EN LA BEBIDA FUNCIONAL ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CHIRIMOYA
- ANEXO H:** ESTADÍSTICO, LEVADURAS DE LA BEBIDA PROBIÓTICA ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CHIRIMOYA
- ANEXO I:** RESULTADOS DE LA VALORACIÓN SENSORIAL EN LA BEBIDA ELABORADA DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CHIRIMOYA
- ANEXO J:** ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL OLOR DE LA BEBIDA PROBIÓTICA ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CHIRIMOYA
- ANEXO K:** ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL COLOR DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE LA ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CHIRIMOYA
- ANEXO L:** ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL SABOR DE LA BEBIDA PROBIÓTICA ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CHIRIMOYA
- ANEXO M:** ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA APARIENCIA DE LA BEBIDA ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CHIRIMOYA
- ANEXO N:** ELABORACIÓN DE LA BEBIDA PROBIÓTICA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CHIRIMOYA
- ANEXO Ñ:** ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS DE LA BEBIDA PROBIÓTICA ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CHIRIMOYA
- ANEXO O:** ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS DE LA BEBIDA PROBIÓTICA ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CHIRIMOYA
- ANEXO P:** CUADRO RESUMEN DE LOS ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

**ANEXO Q:** TINCIÓN DE GRAM EN BACTERIAS PROBIÓTICAS

**ANEXO R:** TINCIÓN EN LEVADURAS

**ANEXO S:** ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO EN LA BEBIDA PROBIÓTICA ELABORADA  
CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CHIRIMOYA

## RESUMEN

El objetivo de la investigación fue elaborar una bebida probiótica utilizando diferentes niveles de pulpa de chirimoya (*Annona cherimola*), pepino dulce (*Solanum muricatum*) y kombucha. La bebida se elaboró con la pulpa de chirimoya 5, 10 y 15%, pepino dulce 10%, té negro 0,5%, agua y scoby 5%, misma que, fue fermentada a la temperatura ambiente de la ciudad de Riobamba 14°C en 8 días. Se evaluaron las características fisicoquímicas: pH (pHmetro), acidez (titulación), sólidos solubles (refractómetro) y % alcohol (picnómetro). En lo microbiológico, se usó la técnica de siembra por extensión en placa y profundidad. En lo organoléptico, se aplicó una prueba escalar hedónica a 25 panelistas no entrenados y en lo económico, se utilizó el indicador Beneficio/Costo. Para el análisis de los datos se utilizó el Software estadístico “InfoStat” aplicando un DCA en combinación con la prueba de separación de medias Tukey ( $P < 0,05$ ) y en lo sensorial se utilizó la prueba de Friedman. El 15% de pulpa de chirimoya genera valores significativos en los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos de la bebida, mostrando un pH de 5 – 4, acidez 0,11 – 0,37g/100 ml de ácido acético, sólidos solubles 4,88 – 1,62 °Brix y alcohol 1,02 %, misma que presenta un crecimiento de bacterias probióticas y levaduras con  $5,32 \times 10^7$  UFC/ml y  $1,36 \times 10^9$  UFC/ml. Todos los tratamientos presentaron ausencia de *E. coli*, Coliformes totales y mohos. La pulpa de chirimoya no influye en el olor, color, sabor y apariencia de la bebida, por otra parte, mientras se aumenta los niveles de pulpa de chirimoya disminuye el beneficio y aumenta los costos. Es posible elaborar una bebida probiótica utilizando el 15% pulpa de chirimoya, lo que permitirá aumentar la diversidad de microorganismos en la flora bacteriana. Es por ello que se recomienda su consumo para aumentar las defensas del cuerpo.

**PALABRAS CLAVE:** <KOMBUCHA>, <CHIRIMOYA (*Annona cherimola*)>, <PROBIÓTICO>, <PEPINO DULCE (*Solanum muricatum*)>, <LEVADURAS> <CULTIVO SIMBIÓTICO DE BACTERIAS Y LEVADURAS (SCOPY)>, <RIOBAMBA (CANTÓN)>.



## ABSTRACT

The objective of research was to make a probiotic drink using different levels of cherimoya pulp (*Annona cherimola*), sweet cucumber (*Solanum muricatum*) and kombucha. The drink was made with the pulp of cherimoya 5, 10 and 15%, sweet cucumber 10%, black tea 0.5%, water and scoby 5%, which was fermented at room temperature of Riobamba City 14°C in 8 days. The physicochemical characteristics were evaluated: pH (pH meter), acidity (titration), soluble solids (refractometer) and % alcohol (pycnometer). In the microbiological, the technique of sowing by extension in plate and depth was used. In the organoleptic area, a hedonic scalar test was applied to 25 untrained panelist and in the economic area the Benefit/Cost indicator was used. For data analysis, the statistical software “InfoStat” was used, applying a DCA in combination with the Tukey mean separation test ( $P < 0.05$ ) and the Friedman test was used in sensory terms. The 15% cherimoya pulp generates significant values in the physicochemical and microbiological parameters of the drink, showing a pH of 5 - 4, acidity 0.11 – 0.37g/100 ml of acetic acid, soluble solids 4.88 – 1.62 °Brix and alcohol 1.02%, which presents a growth of probiotic bacteria and yeasts with  $5.32 \times 10^7$  CFU/ml and  $1.36 \times 10^9$  CFU/ml. All treatments showed absence of *E. coli*, total coliforms and molds. Cherimoya pulp does not influence the smell, color, taste and appearance of the drink, moreover, while increasing cherimoya pulp levels decreases the benefit and increases costs. It is possible to make a probiotic drink using 15% cherimoya pulp, which will increase the diversity of microorganisms in the bacterial flora. That is why its consumption is recommended to increase the body’s defenses.

**KEYWORDS:** <KOMBUCHA>, <CHERIMOYA (*Annona cherimola*)>, <PROBIOTIC>, <SWEET CUCUMBER (*Solanum muricatum*)>, <YEASTS> <SIMBIOTIC CULTURE OF BACTERIA AND YEASTS (SCOBY)>, <RIOBAMBA (CANTON)>.

0742-DBRA-UTP-2023



Mgs. Deysi Lucía Damián Tixi

C.I. 0602960221

## INTRODUCCIÓN

Para prevenir la aparición de enfermedades es necesario mantener un sistema inmunológico saludable, por lo general, esto no se cumple. Últimamente la tendencia de consumir alimentos que contengan probióticos ha aumentado, uno de los motivos, la creciente preocupación por los hábitos alimenticios y su relación con la salud, con el objetivo de mantener saludable el microbiota intestinal y así reducir el riesgo de desarrollar enfermedades (Ruíz, et al., 2015: pp.1993-2015).

Los probióticos son bacterias y levaduras vivas, se conoce que aportan con varios beneficios en la salud, se los puede encontrar en alimentos como el yogurt o como algún suplemento alimenticio, estos microorganismos se encargan de restablecer el equilibrio natural de las bacterias del intestino cuando se ven afectados por alguna enfermedad o tratamiento (NHS, 2018, p.1). Una de las formas más fáciles para adquirir probióticos es a través de la ingesta de bebidas, pero por la falta de conocimiento, las personas desconocen de muchos de ellos, en especial una bebida fermentada que contiene millones de microorganismos probióticos, destacan bacterias y levaduras que en conjunto favorecen a la salud, esta bebida se conoce como “KOMBUCHA”, en sí, es una bebida fermentada muy refrescante que está hecho con té, azúcar y una película gelatinosa denominada SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast), esta bebida tan peculiar puede ayudar a mejorar la salud desde facilitar la digestión hasta eliminar toxinas del cuerpo. La kombucha es perfecta para añadir probióticos a la microflora intestinal para así tener riqueza de microorganismos, además, el té como ingrediente base, permite a la kombucha estar llena de antioxidantes y aportar con muchas propiedades para estimular el sistema inmunológico (Equinox, 2022, p.1).

La chirimoya (*Annona cherimola*), es una fruta de la sierra ecuatoriana, rica en carbohidratos, lo cual lo hace un sustrato adecuado para el crecimiento del “SCOBY”, además, es rico en ácidos orgánicos (málico y cítrico), potasio, vitamina C y fibra (González, 2013, pp.59-60). El pepino dulce (*Solanum muricatum*) es una fruta no muy explotada a nivel nacional, se cultiva en la región Sierra, tiene un alto contenido de agua, presenta propiedades diuréticas, tiene un alto contenido de vitamina C y se recomienda para personas que presentan problemas estomacales (Faulkner, 2007, p.1). Hoy en día no se utilizan estas frutas para elaborar bebidas lo cual abre un nuevo mercado para aprovecharlas y darles un valor adicional.

En el capítulo I se describe el diagnóstico del problema, de forma rápida y concisa se mencionan los antecedentes, el planteamiento del problema, la justificación y los objetivos de la

investigación. En el capítulo II se define el marco teórico, a la vez, se mencionan los antecedentes de investigaciones previas relacionadas a la investigación actual, de ahí, se observan las referencias teóricas, toda aquella definición o argumentos que ayuden a comprender de forma más sencilla de que se trata la investigación. En el capítulo III se aprecia el marco metodológico, donde se describe la localización y la duración del experimento, los materiales, equipos e insumos que se van a utilizar, además, se observa cómo se encuentran distribuidos los tratamientos T0 (0% pulpa de chirimoya); T1 (5% pulpa de chirimoya); T2 (10% pulpa de chirimoya) y T3 (15% pulpa de chirimoya) y el diseño experimental (diseño completamente al azar, DCA). Por otra parte, se observan los análisis fisicoquímicos, microbiológicos, organolépticos, que se van a aplicar en la bebida, acompañado de su análisis estadístico y la prueba de significancia, para conocer cual tratamiento es estadísticamente el mejor, inclusive, se detalla el análisis económico para determinar el mejor beneficio/costo.

En el capítulo IV se muestran los resultados de acuerdo con la metodología aplicada en el capítulo anterior, considerando al tratamiento con el 15% de pulpa de chirimoya, como la variable con mayor nivel significativo en los parámetros fisicoquímicos al inicio y a los 8 días de fermentación, encontrándose a la acidez 0,12 y 0,37g/100ml de ácido acético, sólidos solubles 4,88 - 1,62 °Brix valor ajustado y alcohol con 1,02% valor ajustado, ubicándose en el rango de bebida alcohólica. En el aspecto microbiológico, hay que destacar que, usar el 15% de pulpa de chirimoya genera un crecimiento de bacterias viables de  $5,32 \times 10^7$  UFC/ml, ubicándose dentro de la categoría de probiótico, de acuerdo con la norma (NTE INEN 2395, 2011, pp.3-4), donde establece que el requerimiento mínimo para considerarse un alimento funcional es de  $1 \times 10^6$  UFC/ml.

Esta investigación abre camino para elaborar nuevos productos que puedan generar un beneficio para la salud del consumidor, aprovechando los recursos que pocas veces son destinados para industrializar y de esta forma generar nuevos mercados, réditos económicos y solventar las necesidades de las personas al aumentar las defensas del cuerpo humano.

## CAPITULO I

### 1 DIAGNÓSTICO DEL PROBLEMA

#### 1.1 Antecedentes

La tendencia de consumir alimentos que contengan probióticos ha aumentado entre los años 2020 y 2021, en lo cual existen 2 tipos de consumidores, primero los que no tienen un conocimiento sobre este tipo de alimentos, pero buscan conocer cuáles son sus beneficios y segundo, aquellas personas que ya conocen de los beneficios y buscan uno en específico. Es importante destacar que el microbiota intestinal se ha convertido en el centro de la nutrición, debido a que, se puede llegar a prevenir y tratar enfermedades a través de ella (Afepadi, 2021, p.1).

Desde el tiempo de pandemia ha surgido una nueva tendencia en el mercado “la alimentación enfocada en la salud digestiva”, en el artículo obtenido de (La opinión, 2020, p.1) menciona que, para mantener las defensas fuertes y para evitar dolencias que pongan en riesgo a la salud es necesario mantener un sistema digestivo saludable, mediante la ingesta de probióticos, esta tendencia ha incrementado entre 2015 y 2019 en 23%, por lo cual la elaboración de este tipo de alimentos lo hace atractivo para el consumidor.

El mercado de los probióticos ha tenido un incremento con el pasar de los años, es así como, en el año 2021 alcanzó 61 500 millones de USD, esto ha generado un gran interés debido a su proyección para el año 2028, el cual, se espera una tasa de crecimiento anual compuesta (CAGR) de 8,4% lo que representaría 108 160 millones de USD. El crecimiento es gracias a la creciente demanda de alimentos saludables probióticos, debido a que, las personas buscan obtener mayor inmunidad, mantener en equilibrio la microbiota intestinal, fortalecer el sistema inmunológico, proteger a las proteínas y los lípidos de los daños y reducir el riesgo de patógenos, por esta preocupación se espera que el mercado de alimentos probióticos siga en aumento, incluso se fomenta su consumo, gracias a las publicaciones de las organizaciones sobre los beneficios y el marketing que se aplica sobre ello (Brandessence Market Research, 2022, p.1). Actualmente, el mercado de las bebidas fermentadas ha tenido un crecimiento exponencial en Asia-Pacífico, aumentando la demanda de bebidas como: kombucha, té herbales y similares en Japón, India, China y otros países, lo cual, se espera que tengan mayor crecimiento (Specialty Foods, 2018, p.19). La kombucha es una de las bebidas que se encuentra en auge, en el año 2020 superó la cifra de USD 2655 millones en el tamaño de mercado y se estima un crecimiento del CAGR superior al 17% entre 2021 y 2027 (Ahuja & Singh, 2020: p.1).

## 1.2 Planteamiento del problema

Las personas por la falta de conocimiento y de información, no buscan un medio para proteger su “salud intestinal”, muchos de ellos incluso desconocen del término mencionado, aunque desconozcan de los beneficios, el único probiótico que consumen es el yogurt, pero el cuerpo humano necesita de muchas bacterias benéficas para diversificar la flora bacteriana y aumentar su riqueza (Southey, 2022, p.1). En nuestro cuerpo, específicamente en el intestino grueso existen entre 39 y 300 billones de bacterias, es por ello que, se necesita aumentar el consumo de alimentos que nos proporcionen bacterias viables, para así, ayudar a colonizar el intestino y aumentar la flora bacteriana. Muchos científicos mencionan que la flora intestinal se lo conoce más como el “órgano olvidado”, es importante destacar que la flora intestinal realiza muchas funciones entre ellas fabricar vitaminas como es la vitamina K y la vitamina B, estimula el sistema inmunológico y fortalece la pared celular y evita la aparición de enfermedades crónicas del intestino (Gunnars, 2020, p.1).

Hoy en día, por el medio tan contaminado en el que vivimos, necesitamos un remedio natural para desintoxicar el organismo y de esta forma aumentar las defensas del cuerpo para poder combatir todo tipo de enfermedad que pueda generar problemas en la salud, es así, el caso del COVID-19, es importante recalcar que no es el virus el que afecta sino la respuesta del sistema inmunológico contra el virus (González, 2022, p.1). Un alimento, específicamente un té fermentado que cumple los requisitos mencionados es la “kombucha”, esta bebida contiene millones de bacterias y levaduras que cumplen una función de mutua ayuda conocido como “simbiosis”, pero en muchos países del mundo no se le ha dado la importancia que se merece, uno de los principales problemas es por la falta de conocimiento de la forma en la que se elabora, uno de esos países es Ecuador (Robles, 2011; citados en Villamar, 2021, p.19).

En el Ecuador, la chirimoya (*Anona cherimola*), es un fruto que no se le ha dado los incentivos necesarios para fomentar su producción e industrialización, por lo cual tiene una importancia muy baja en la parte industrial, económica y de exportación (Guerrero, 2012, p.1). Para el año 2021 se obtuvo una producción (Tm.) de 267, con número de árboles dispersos cosechados de 14 356, con ventas de (Tm.) de 55 (INEC, 2021, p.1), estos valores son menores a los que se producían en años anteriores y eso se debe por la falta de interés de parte del Estado en agregarle valor a este fruto exótico. Otro fruto incluso menos apreciado que la chirimoya, es el pepino dulce (*Solanum muricatum*), en el mercado ecuatoriano no existe una producción y venta de productos que sean elaborados con este fruto, y no se lo aprovecha por sus gran cantidad de antioxidantes que son muy beneficiosos para la salud, este fruto debe ser más reconocido por sus funciones antioxidantes y antiinflamatorias, se conoce que es muy bueno para regular la hipertensión, eliminar el

colesterol e incluso regular los niveles de azúcar en la sangre, por todo esto se debe aprovechar estos frutos por sus funcionalidades y por sus propiedades nutricionales que le puede otorgar a un producto terminado (Riquero, 2015, p.6).

### **1.3 Justificación**

La creciente preocupación por la salud de los consumidores y la creciente conciencia de los efectos que conlleva la falta de la diversidad de la flora bacteriana, ha puesto en duda el consumo de alimentos que carecen de ello, es aquí, donde aventaja los alimentos naturales-probióticos, como es la kombucha, un té fermentado, que contiene una simbiosis de microorganismos (bacterias y levaduras), que ejercen un efecto beneficioso en la salud del que lo consume, además, por su agradable sabor al paladar, ha permitido satisfacer todo tipo de consumidor, de la misma manera, es importante destacar su importancia en el mercado, porque abre un nuevo mundo de oportunidades, en el que se pueden crear un sin número de sabores, aquí se puede explotar la creatividad, pero hay que reconocer que las bebidas que más sobresalen, son las que contengan un sabor frutal (Ahuja & Singh, 2020: p.1).

Los probióticos son microorganismos vivos capaces de generar un efecto beneficioso en la salud, han sido usados para la prevención y el tratamiento de enfermedades agudas y crónicas del intestino incluso otras afecciones (Castañeda, 2018, p.1). La kombucha es una bebida fermentada por una simbiosis de levaduras y bacterias, en la cual, algunos autores mencionan la importancia de su consumo en la salud, principalmente porque aportan con polifenoles y catequinas lo que le confiere propiedades antimicrobianas, antibióticas y previene la aparición de varios tipos de cáncer (Rasouli, et al. 2021: p.376; Zisca et al., 2019: pp.1-10; Nyiew et al., 2022: pp.1024-1053). La kombucha, es un remedio natural que se puede valorar por sus propiedades medicinales, hoy en día por el alto nivel de toxicidad que estamos viviendo y por las enfermedades que están apareciendo es necesario de alguna forma desintoxicar todo nuestro organismo para mantener las defensas fuertes, es ahí, donde aparece la kombucha, un remedio natural al alcance de todos, es por ello que, al contener organismos vivos que son capaces de regenerar la microbiota benéfica del organismo sobre todo en el aparato digestivo, permite regenerar las defensas, con lo cual, es recomendado su consumo regular (Rubio, 2007, p.2).

La chirimoya (*Annona cherimola*) se cultiva en la región Interandina en las provincias de Imbabura, Pichincha, Tungurahua, Azuay y Loja, es una fruta muy digestiva y nutritiva se caracteriza por su combinación muy armónica en su composición de ácidos y azúcares estos últimos son el producto de la reducción del almidón, predominando la glucosa (11,75%) y

sacarosa (9,4%). Por lo tanto, es un sustrato favorable para el crecimiento de la simbiosis de los hongos kombucha (*Medusomyces gisevi*). Los principales ácidos orgánicos en su composición son: el ácido cítrico y el ácido málico, lo cual va a permitir la conservación de la bebida probiótica, además, se destaca su contenido en potasio y vitamina C y su aporte de fibra (1,8%) mejorando el tránsito intestinal (González, 2013, pp.59-60).

El pepino dulce (*Solanum muricatum*) es una fruta de la sierra ecuatoriana principalmente se cultiva en Ibarra, San Antonio de Pichincha, Patate, Píllaro, Vilcabamba, Loja, etc., entre sus características nutricionales se destaca el alto contenido en agua (92%), tiene propiedades diuréticas, por lo que se recomienda el consumo para personas que tienen problemas en retención de líquidos, además, al ser un alimento suave, se recomienda para casos de diarrea o infecciones estomacales, así mismo, esta fruta se caracteriza porque contiene mucha vitamina C (Faulkner, 2007, p.1). En las industrias no se utiliza esta fruta para elaborar bebidas, lo cual lo hace mucho más atractivo por su funcionalidad y por sus bajos precios, incluso por el sabor que le va a brindar a la bebida probiótica.

Por lo antes mencionado, en el presente trabajo de investigación se pretende elaborar una bebida probiótica utilizando diferentes niveles de pulpa de chirimoya (*Annona cherimola*) (5%, 10% ,15%) y con la adición de pepino dulce en una fermentación con kombucha, para así, obtener una bebida funcional saludable.

## **1.4 Objetivos**

### ***1.4.1 Objetivo General***

- Elaborar una bebida probiótica a base de chirimoya (*Annona cherimola*), pepino dulce (*Solanum muricatum*) y kombucha.

### ***1.4.2 Objetivos Específicos***

- Conocer las características microbiológicas, fisicoquímicas y organolépticas del producto obtenido.
- Determinar el mejor nivel de pulpa de chirimoya (*Annona cherimola*) (5%, 10% ,15%) como sustrato de la bebida probiótica.
- Determinar el Beneficio/Costo de la bebida probiótica proyectado a un mercado común.

## CAPITULO II

### 2. MARCO TEÓRICO

#### 2.1 Antecedentes de Investigación

En la investigación realizada por (Villamar, 2021, p.67) denominada “evaluación de la capacidad antioxidante y conteo de probióticos de una bebida kombucha (*Manchuria fungus*) elaborada con jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*)”, elaboró 3 tratamientos con diferentes concentraciones de sacarosa y té negro, incluyendo pulpa de jackfruit de forma constante, inoculó la bebida con el 1% de SCOBY y la fermentó a 25°C durante 12 días, el mejor resultado de acuerdo a la prueba de Tukey con el 5% de confianza, destacó al tratamiento T3. De acuerdo con los parámetros fisicoquímicos, obtuvo un valor de 2,66 pH, <0,05% Alcohol y 38,90g/L azúcares totales. En los parámetros microbiológicos, para aerobios mesófilos con  $1,9 \times 10^1$  UFC/ml; *E. coli* <3 NMP/ml; *Salmonella* ausencia/25 ml; *Staphylococcus aureus* < $1 \times 10^0$  UFC/ml; mohos y levaduras  $1,85 \times 10^0$  UP/ml. Para el recuento de microorganismos probióticos registró un valor de  $9,2 \times 10^4$  UFC/ml.

De acuerdo con (Valiyan et al., 2021: pp.1877-1891) quienes investigaron los efectos que generan al variar las condiciones de fermentación sobre la actividad bacteriana en varias bebidas de kombucha (té negro, té verde, verbena de limón y menta). Las variables que evaluaron fueron la utilización de 3 concentraciones de azúcar (2, 5 y 8%) y diferentes tiempos de fermentación (7, 14 y 21 días). Los resultados demostraron que la kombucha elaborada con té negro con el 8% de azúcar/21 días de fermentación generó la mayor inhibición contra *B. cereus*, en cambio, la kombucha elaborada con menta y verbena de limón con el 8% de azúcar generó la mayor inhibición contra *E. coli* y *S. dysenteriae* respectivamente. Esta investigación nos demuestra que, la kombucha es efectiva contra microorganismos patógenos, teniendo en cuenta el 8% de sacarosa en 21 días de fermentación.

En un estudio realizado por (Arruda et al., 2020: pp.1-13) donde tenían como objetivo desarrollar y analizar la calidad microbiológica y fisicoquímica de una bebida de kombucha con sabor a uva. La bebida fue fermentada por 5 días, pero los análisis lo realizaron en la segunda fermentación, tiempo 0 (llenado) y tiempo 3 (tercer día de fermentación), en los análisis microbiológicos, reportó la ausencia de coliformes totales, coliformes termotolerantes y *Samonella* sp., el crecimiento más viable fue en el tiempo 3 en bacterias lácticas con  $1,1 \times 10^3$  UFC/ml y para bacterias acéticas el tiempo 0 con  $3,3 \times 10^2$  UFC/ml. En cuanto a los parámetros fisicoquímicos el

pH, fue de 3,5 a 3,78 en el periodo de fermentación, a diferencia de la acidez que permaneció constante (7,5% ácido tartárico), no obstante, los sólidos solubles sufrieron una disminución de 9,0 a 8,5 °Brix debido al proceso de fermentación.

En una investigación donde se utilizó el jugo de uva roja como sustrato alternativo para elaborar una bebida fermentada con el consorcio de kombucha, fue desarrollada por (Ayed et al., 2017: pp.111-121), en la investigación evaluaron los parámetros fisicoquímicos, microbiológicos y sensoriales. Los resultados en relación con el crecimiento microbiano de levaduras, bacterias acéticas (*Gluconobacter* y *Acetobacter*) y bacterias lácticas, demostraron que las levaduras y bacterias acéticas del género *Gluconobacter* crecieron hasta el día 6, a partir de este día empieza a decrecer, las bacterias lácticas crecieron hasta el día 2, de ahí, empieza el periodo de declive. En los análisis fisicoquímicos, el pH, al día 0 presentó un valor de 3,95, disminuyendo hasta el día 12 con 2,91, en comparación a la acidez, cumple la relación inversamente proporcional con el pH, al aumentar su valor de 25,9 a 104, 2 meq/L a los 12 días de fermentación y finalmente el porcentaje de etanol no presentó una secuencia ordenada debido que, el valor más alto lo obtuvo al 8 día y el más bajo al 2 día. En la evaluación sensorial el jugo fermentado por 6 días fue el más apreciado por el panel de degustadores, por lo que, un mayor tiempo de fermentación genera un sabor agrio distintivo. Esta investigación demuestra que se puede elaborar bebidas fermentadas a base de frutas y kombucha, para obtener un producto de alto valor funcional.

En un estudio realizado por (Ching et al., 2020: pp.1-8) donde buscaron optimizar la producción de kombucha de guanábana (*Annona muricata*. L.) y conocer los efectos que generan los cambios en las condiciones de almacenamiento en la actividad biológica de la bebida. De acuerdo con el método de superficie de respuesta, obtuvieron que los parámetros óptimos de producción son los siguientes: 300 ml de jugo de guanábana, 700 ml de té negro y 150 g de azúcar en 14 días de fermentación a 28°C. De acuerdo con la actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, no presentaron efectos significativos. La población microbiana (levaduras y bacterias ácido-lácticas) se redujo de forma general de  $1 \times 10^6$  UFC/ml antes del almacenamiento, a  $1 \times 10^4$  UFC/ml después del almacenamiento a 4 y 25°C en condiciones de luz y oscuridad. En el perfil metabólico demostraron que se disminuye de forma significativa la sacarosa, ácido acético, ácido glucónico y el etanol, pero aumenta la glucosa. Es importante recalcar que las condiciones de almacenamiento durante 21 días a 25°C reducen un 98% del contenido de etanol.

(Zubaidah, et al., 2019: pp.1-3) Evaluaron el potencial de diferentes variedades de fruto de la serpiente (*Salak Doyong*, *Salak Madu*, *Salak Pondoh*, *Salak Segaran* y *Salak Suwaru*), la bebida la

prepararon con jugo de fruta de la serpiente, agregando azúcar y el consorcio de kombucha, el cual lo fermentaron por 14 días. En la investigación evaluaron las propiedades fisicoquímicas y sensoriales, la fruta con las mejores características destacaron el cultivar *Salak Suwaru*. En los resultados de acuerdo con los parámetros fisicoquímicos reportan en azúcar total 7,54%, sólidos solubles totales 11,3%, acidez total 1,65%, pH, 3,15. En el parámetro sensorial en una valoración de 5 puntos, obtuvieron 3,90 para el color, 3,70 para el gusto y 3,80 para el aroma. En los análisis microbiológicos se destaca que el ácido acético es el ácido orgánico predominante, en vista de que ejerce una acción antimicrobiana frente a bacterias gram positivas (*Staphylococcus aureus*) y gram negativas (*Escherichia coli*). La investigación demuestra que se puede utilizar las frutas de serpiente para elaborar alimentos funcionales a través de la fermentación de kombucha.

De acuerdo con (Kaashyap et al, 2021: p.4446) buscaron la diversidad microbiana y las características de la kombucha mediante análisis metagenómico (ARNs 16S e ITS) y fisicoquímico. En la kombucha se encontraron 34 géneros con 200 especies microbianas, entre estas se destacan: *Acetobacter*, *Komagataeibacter* y *Starmereison*, puesto que son saludables para el intestino humano. En este estudio mencionan que la kombucha tiene un alto contenido de proteína (3,31 ug/ml), alto contenido de fenoles (290,4 mg/100ml) y bajo contenido de azúcares (glucosa: 1,87 g/L; sacarosa 1,11 g/L; fructosa: 0,05g/L).

En la investigación realizada por (Shahbazi et al., 2018: pp.2268-2577) quienes tuvieron por objetivo evaluar los efectos de diferentes plantas medicinales (canela, cardamomo y tomillo shirazi) al medio de kombucha y analizar los cambios que se generan en las propiedades fisicoquímicas, antimicrobianas y sensoriales. Las bebidas la elaboraron con el 6,5% de sacarosa, 0,7% de té verde y la planta medicinal, 4% del inóculo (SCOBY), a 28°C de temperatura. Las plantas medicinales se mezclaron en la siguiente relación con el té verde 50:50 (0,35%, p/p: 0,35%, p/p), la fermentación duró 16 días. En los resultados de acuerdo con los parámetros fisicoquímicos destacan que el ácido que predomina en la bebida es el acético, aumentando con el tiempo de fermentación, asimismo, la kombucha con sabor a canela predominó el ácido glucurónico, láctico, cítrico, mientras que, el de sabor a tomillo shirazi obtuvo el mayor valor en los ácidos oxálico y málico. En relación al pH, la kombucha sabor a canela presentó el valor más bajo (2,96), a causa de la mayor cantidad de ácido orgánicos presentes. De acuerdo con las propiedades antimicrobianas la kombucha con sabor a canela presentó la mayor capacidad inhibitoria contra *E. coli*, *S. typhimurium* y *S. aureus*, el menor efecto se observó en la kombucha con sabor a cardamomo. Finalmente, en la evaluación sensorial utilizaron 12 panelistas semientrenados utilizando una escala hedónica de 5 puntos, los resultados favorecen a la kombucha con sabor a canela en los parámetros de sabor, olor, dulzura, acidez y color en comparación a las demás

muestras. Esta investigación nos demuestra que se pueden usar plantas medicinales para promover más la identificación de la kombucha como una bebida funcional.

En un estudio donde evaluaron las características de la actividad microbiológica, química y antibacteriana de la cúrcuma (*Curcuma longa*) en la elaboración de una kombucha realizado por (Zubaidah et al., 2021: pp.1-8). Para elaborar la bebida lavaron en rodajas de 1–3mm de cúrcuma, la secaron en una secadora de armario (60°C/5 Horas), lo molieron hasta obtener un polvo y lo colocaron en una bolsa de té. Las variables que midieron son las concentraciones de cúrcuma (0,4%; 0,8%; 1,2%; 1,6%; 2%), además compararon con un tratamiento control (100% de Té negro), la bebida la elaboraron con el 10% de sacarosa, 10% de cultivo iniciador, y la fermentaron a temperatura ambiente por 12 días, el mejor tratamiento que obtuvieron de acuerdo al Multi-Criteria Decision-Making (MCMD) es el tratamiento con el 0,8% de cúrcuma, obteniendo los siguientes resultados: un pH de 2,92, una acidez total de 0,28%, un contenido fenólico total de 147,45ug GAE/ml; y un azúcar total de 8%. En la parte microbiológica el crecimiento microbiano fue de  $2,5 \times 10^7$  UFC/ml, el diámetro de inhibición para la zona de *E. coli* de 3,13mm, mientras que, al comparar estos resultados con la kombucha elaborada con té negro obtuvieron un pH de 2,81, acidez total de 0,58%, fenoles totales 716,02 ug GAE/ml, azúcares totales de 7,83% y un contenido microbiano total de  $1,3 \times 10^8$  UFC/ml y un diámetro de inhibición de *E. coli* de 2,50mm.

En una investigación donde aprovecharon los residuos que se obtienen del café (borras), (Carvajal, 2019, pp.55-56) para conocer las características microbiológicas, fisicoquímicas y organolépticas del producto obtenido, realizaron varios ensayos y pruebas para determinar cuál era la formulación que presenta los mejores resultados en los aspectos fisicoquímicos, microbiológicos y sensoriales. Analizaron la kombucha a los 5 días de fermentación y obtuvieron los siguientes resultados: en la parte microbiológica, en el recuento de mohos y levaduras  $82,5 \times 10^5$  UFC/ml; aerobios totales  $60,7 \times 10^5$  UFC/ml; coliformes totales  $< 1,0 \times 10^1$  UFC/ml y *E. coli*  $1,0 \times 10^1$  UFC/ml. En la parte fisicoquímica obtuvieron lo siguiente: sólidos solubles 8,3 °Brix; acidez titulable 0,402g/100ml y pH 2,73. En la evaluación sensorial aplicada a en la población de Jipijapa en la provincia de Manabí, el producto que obtuvieron tiene un valor mínimo de aceptación de 4 que equivale a “muy bueno” al utilizar una escala de likert de 1 al 5. En la investigación concluyeron que, la kombucha a base de borras de café es viable y consigue las mejores propiedades cuando se encuentra en un pH de 2,80 a 3, es por ello que, le otorga una acidez agradable en boca sin residuos amargos. Además, con 12g/L de azúcar y una fermentación de 9 días obtiene una bebida con un dulzor y fermentado adecuado, lo que le da un sabor agradable. Sin embargo, sugieren que una concentración de 36% de café para que la bebida obtenga un cuerpo y un aroma adecuado.

## **2.2 Referencias Teóricas**

### **2.2.1 Probióticos**

Son microorganismos vivos que, al ser ingeridos en una cantidad adecuada llegan a aportar un beneficio en la salud (NIH, 2022, p.1), por lo general, estos microorganismos son de forma bacilar o cocobacilar gram positivos, tienen la capacidad de desdoblar estructuras complejas (carbohidratos), para obtener compuestos más sencillos (ácido láctico, acético, fórmico, propiónico, entre otros), estos productos ayudan a la digestión, e incluso a eliminar agentes patógenos del intestino para mantener en equilibrio el sistema inmunológico (Salazar & Montoya, 2003: p.21).

### **2.2.2 Requisitos de los microorganismos para considerarse probióticos**

De acuerdo con (Rondon et al., 2015: p.125) para poder considerar a un microorganismo como probiótico es necesario que cumpla con ciertos requerimientos (seguridad, funcionales y tecnológicos) como se menciona a continuación:

#### **2.2.2.1 Requerimiento de seguridad**

- Las cepas deben ser de origen humano.
- Deben ser aislados de humanos sanos.
- No deben ser patógenos ni tóxicos.
- No deben presentar genes trasmisibles con resistencia antibiótica.

#### **2.2.2.2 Características Funcionales**

- Sobrevivir al ambiente gastrointestinal.
- Adherencia a las paredes de la superficie epitelial y resistencia al tracto gastrointestinal.
- Actividad antagonista contra los agentes patógenos.
- Actividad anticancerígena y antimutagénica.

#### **2.2.2.3 Aspectos tecnológicos**

- Contar con un número viable de cepas que pueden generar un efecto benéfico demostrado.
- Viabilidad durante el procesado.

- Estable en el producto elaborado y durante el almacenamiento.
- Evidencia científica: estudios demostrados sobre la eficacia en los seres humanos.

### 2.2.3 *Microorganismos probióticos*

Por lo general, los microorganismos usados como probióticos son de origen humano y no son considerados patógenos. Sin embargo, deben conservar su viabilidad durante el procesamiento y tránsito por el intestino, debido a su tolerancia a los ácidos y sales biliares (Ragavan & Das, 2017: pp.451-455). En la Tabla 1-1 se observa los principales microorganismos empleados como probióticos.

**Tabla 1-2:** Principales microorganismos empleados como probióticos

<i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	Otros
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. adolescentis</i>	<b>Lactococcus</b>
<i>L. brevis</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>L. lactos</i>
<i>L. buchneri</i>	<i>B. breve</i>	<i>L. cromoris</i>
<i>L. bulgaricus</i>	<i>B. infantis</i>	<i>L. diacetylactis</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. lactis</i>	
<i>L. cellobiosus</i>	<i>B. longum</i>	<b>Bacillus</b>
<i>L. crispatus</i>		<i>B. subtilis</i>
<i>L. curvatus</i>	<b>Enterococcus</b>	<i>B. coagulans</i>
<i>L. fermentum</i>	<i>E. faecalis</i>	
<i>L. gasseri</i>	<i>E. faecium</i>	<b>Otros</b>
<i>L. johnsonii</i>		<i>Escherichia coli</i>
<i>L. keflir</i>	<b>Streptococcus</b>	<i>Leuconostoc spp.</i>
<i>L. lactis</i>	<i>S. salivarius</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>
<i>L. plantarum</i>	<i>S. thermophilus</i>	
<i>L. reuteri</i>		
<i>L. rhamnosus GG</i>	<b>Sacharomyces</b>	
<i>L. sakei</i>	<i>S. boulardii</i>	
<i>L. salivarius</i>	<i>S. cerevisiae</i>	

Fuente: (Castañeda, 2014, p.1)

#### **2.2.4 *Productos probióticos a base de frutas***

En la actualidad, se ha mostrado un interés por la compra de productos probióticos a base de jugo de frutas, debido a que, contienen varios nutrientes como son: minerales, vitaminas, fibras dietéticas, antioxidantes, etc. Además, no presentan riesgos o impedimentos que condicione su consumo como es el caso de los productos lácteos, que son limitados para cierto grupo de la población (Tuorila & Cardello, 2002; citados en Song et al., 2012: pp.12-13). Por otra parte, para elaborar este tipo de bebidas hay que tomar en cuenta la cepa apropiada de microorganismos y el tipo de fruta a utilizar, debido a que, de esto dependerá su impacto sensorial en el consumidor, un claro ejemplo es el uso de *L. plantarum*, cuando se agregó a un jugo de naranja, el resultado fue insatisfactorio, ya que, los consumidores no lo prefirieron (Song et al., 2012: p.13). Por el contrario, en un estudio realizado por (Wang et al., 2009; citados en Song et al., 2012: p.13) demostró que el jugo de noni es un sustrato ideal para elaborar probióticos, en los cuales se utilizó específicamente las cepas *B. longum* y *L. plantarum*, mostrándose así, la idoneidad en este tipo de bebida.

En otro estudio realizado por (Isas et al., 2020: pp.1-11) se evidenció la eficacia al utilizar la chirimoya (*Annona cherimola mill*) como sustrato para el crecimiento de bacterias ácido-lácticas, que fueron aisladas de frutos autóctonos del noreste de argentina, durante la fermentación a 30°C por 48 horas, seguido por un almacenamiento de 21 días a 4°C, el recuento final fue de 1x10<sup>8</sup>UFC/mL considerándose así, una bebida probiótica funcional, por otra parte, no se evidenció cambios en la capacidad antioxidante de la bebida, solo en su contenido de fenoles. Los resultados en esta investigación demuestran la eficacia al utilizar frutas con un alto contenido en azúcares (fructosa, glucosa) como es la chirimoya.

#### **2.2.5 *Beneficios de los probióticos***

De acuerdo a reportes científicos, las bacterias probióticas pueden reducir la incidencia del cáncer, debido a que, son componentes dietéticos, aunque, no exista mucha información, lo que se ha demostrado es que ciertos miembros del género *Lactobacillus* y *Bifidobacterium spp.*, pueden llegar a disminuir los niveles de enzimas cancerígenas, que son producidas por la flora colónica mediante la normalización en la permeabilidad intestinal y el equilibrio de la microflora, incluso, permite la formación de ácidos orgánicos antimutagénicos, logrando así, la mejora del sistema inmunitario del huésped (Kechagia et al., 2013: pp.4-5).

De acuerdo a (Kechagia et al., 2013: p.5) los alimentos que contienen bacterias probióticas, posiblemente puedan prevenir ciertas enfermedades, entre estas de las arterias coronarias al reducir el colesterol sérico, de la misma manera, permite el control de la presión arterial, debido

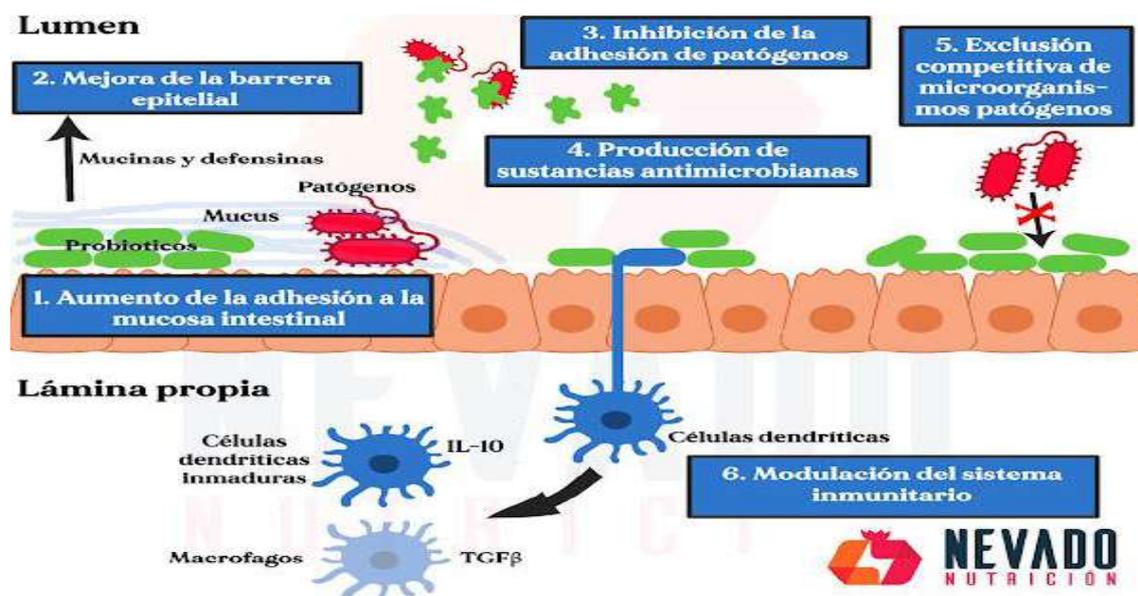
a los mecanismos que ejercen las bacterias probióticas como son: interferencia con la absorción de colesterol del intestino, permitiendo así, la absorción directa del colesterol, dando como resultado la formación de productos de fermentación que afectan los niveles sistemáticos de lípidos en la sangre, mediante un efecto antihipertensivo, aunque, todo esto está en debate porque se necesita mayor investigación en seres humanos a largo plazo.

De acuerdo con (Quirónsalud, 2021, p.1) los principales beneficios de los probióticos son los siguientes:

- Prevenir y combatir enfermedades intestinales como son: colitis, síndrome de intestino irritable, enfermedades de crohn e inflamación intestinal.
- Combatir enfermedades como el cáncer, candidiasis, hemorroides e infecciones urinarias.
- Combatir la diarrea y el estreñimiento, regulando el tránsito intestinal.
- Aumentar la absorción de nutrientes como es la vitamina B, calcio y hierro.
- Fortalecer el sistema inmunológico, aumentando la producción de macrófagos, células que se encargan de defender el organismo.
- Impedir la proliferación de bacterias patógenas en el intestino.
- Ayuda a digerir la lactosa, especialmente en aquellas personas que presentan intolerancia a este componente.
- Prevenir problemas como obesidad, colesterol alto e hipertensión.
- Prevenir alergias e intolerancias alimenticias.
- Ayudar a mejorar el estado de ánimo, en estudios se menciona que existe una relación directa entre el equilibrio de la flora intestinal con la disminución de enfermedades como la depresión y la ansiedad.

#### ***2.2.6 Mecanismos de acción de los probióticos***

Entre los mecanismos de acción de los probióticos se destaca el aumento de la adhesión a la mucosa intestinal, mejora de la barrera epitelial, inhibición de la adhesión de patógenos, producción de sustancias antimicrobianas, exclusión competitiva de microorganismos patógenos y modulación del sistema inmunitario (Nevado, 2021, p.1). Esto se puede observar en la figura 1-1.



**Ilustración 1-2:** Mecanismo de acción de los probióticos

Fuente: (Nevado, 2021, p.1).

## 2.3 Kombucha

Es una bebida fermentada, no alcohólica, a la cual se le añade agua, té negro o té verde con azúcar, lo cual permite el crecimiento de levaduras y bacterias denominadas “SCOBY” (Symbiotic culture of bacteria and yeast), por lo general, la fermentación se lo realiza en un recipiente abierto, por tiempo de 2 a 3 semanas a temperatura ambiente, dando como resultado una bebida con un sabor dulce con un ligero toque ácido. La kombucha presenta relación con la salud, porque ayuda a equilibrar la flora intestinal, fortalece el sistema inmunológico, mejora el funcionamiento del intestino, desintoxica el hígado, entre otros (Zanin, 2022; Citados en Campos et al., 2018: pp.111-157).

### 2.3.1 Origen

La Kombucha apareció en el noreste de China en una pequeña región conocida como Manchuria, alrededor del año 220 a.c., la bebida empezó a conocerse por sus propiedades curativas. En informes se relata que el nombre de la bebida deriva del Dr. Kombu, un médico de origen coreano que llevo el té fermentado hacia Japón, para poder curar al emperador Inkyo, este, al ver los beneficios que le aportó, lo recomendó a todo el territorio, es así que, se expandió tanto que llegó a Europa como resultado de la expansión de rutas comerciales en el siglo XX, el lugar donde más se dio a conocer fue en Rusia a la que se le denominó “Kambucha” y Alemania “Kombuchaschamm”. La popularidad se vio afectada durante la “Segunda Guerra Mundial”, debido a la escasez de recursos (azúcar y té), pero no fue hasta el año de 1960 que se hizo tan

popular, luego de que se realizará una investigación en Suiza y se comparará sus beneficios a la salud con los del yogurt (Troitino, 2017, p.1).

### **2.3.2 Scoby**

Según (González et al., 2018: p.339), es un cultivo simbiótico de bacterias y levaduras conocido como “Scoby” por sus siglas en inglés (symbiotic culture of bacteria and yeast). En datos de literatura se menciona que, durante el crecimiento de la simbiosis microbiana, se comienza a formar una “colonia macroscópica plana en la superficie de la solución de té”, en el que se encuentran diferentes grupos de bacterias acéticas *Acetobacter xylium*, *Acetobacter xylinoides*, *Bacterium gluconicum*, *Acetobacter aceti*, *Acetobacter pasteurianus* y levaduras *Zygosaccharomyces*, *Pichia*, *Brettanomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Sacharomycodes*, *Torulospora* y *Candida*. Se puede destacar la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, siendo de amplio uso a nivel industrial, además, se encuentra dentro del grupo de probióticos más usados, debido a que sus propiedades fisicoquímicas le confieren la capacidad de generar una relación simbiótica entre el huésped y su microbiota intestinal (Díaz et al., 2017: pp.175-189).

Es importante destacar que las bacterias y levaduras que se encuentran formando parte de la estructura celulósica denominada “Scoby” dependen unas de otras. Las levaduras proporcionan aminoácidos esenciales para los *Lactobacillus* y estos producen nutrientes para la levadura, esto nos demuestra que el metabolismo de estas especies permite la interacción simbiótica entre estos dos géneros microbianos (Torres, 2017, pp.18-51). La simbiosis de bacterias y levaduras cumple una función protectora creando una capa doble contra los agentes patógenos que traten de invadir el medio líquido, así mismo, el pH bajo del “starter o líquido iniciador” ayuda a romper las membranas celulares de las bacterias no deseadas, lo cual reduce la probabilidad de que en la bebida se genere alguna toxina (Crum & Lagory, 2016; citados en Granda & Estupiñán, 2019: p.19).

### **2.3.3 Composición microbiológica de la kombucha**

En la kombucha, la composición microbiana es muy variante, debido a que, ciertas bacterias y levaduras predominan durante el proceso de fermentación, estas dependen unas de las otras para su existencia, lo cual crea una simbiosis que le permite su protección contra agentes externos, para ello, es de gran importancia realizar pruebas microbiológicas para determinar el grado de seguridad y calidad que puede otorgar el alimento, sobre todo es fundamental tener el conocimiento sobre las condiciones higiénicas en las que se realizan los productos, los riesgos y la vida útil del mismo, hay que destacar que varios investigadores han realizado pruebas en sus productos y los microorganismos que se han reportado se observa en la tabla 2-2.

**Tabla 2-2:** Microorganismos presentes en la kombucha.

AUTORES	LEVADURAS	BACTERIAS ÁCIDO ACÉTICAS	BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS
(Tran et al., 2020: p.963; Bellut et al., 2018: p.66)	<i>Brettanomyces ( Dekkera )</i>	<i>Acetobacter indonesiensis</i>	
	<i>Brettanomyces bruxellensis</i>	<i>Acetobacter papayae</i>	
	<i>Hanseniaspora valbyensis</i>	<i>Komagataeibacter saccharivorans</i>	
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Gluconacetobacter entanii</i>	
	<i>Hanseniaspora opuntiae</i>		
	<i>Pichia aff. fermentans</i>		
	<i>Galactomyces geotrichum</i>		
(Coton et al., 2017: pp.1-17)	<i>Candida boidinii</i>	<i>Acetobacter lovaniensis</i>	<i>Oenococcus oeni</i>
	<i>Dekkera anómala</i>	<i>Acetobacter okinawensis</i>	<i>Lactobacillus nagelii</i>
	<i>Dekkera bruxellensis</i>	<i>Acetobacter peroxydans</i>	<i>Lactobacillus satsumensis</i>
	<i>Hanseniaspora valbyensis</i>	<i>Acetobacter syzygii</i>	
	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	<i>Acetobacter tropicalis</i>	
	<i>Pichia membranifaciens</i>	<i>Gluconacetobacter eurapaeus</i>	
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Gluconacetobacter hansenii</i>	
	<i>Saccharomyces uvarum</i>	<i>Gluconacetobacter intermedio</i>	
	<i>Torulaspora microelipsoides</i>	<i>Gluconobacter cerinus</i>	
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	<i>Gluconobacter oxydans</i>		
<i>Zygotorulaspora florentina</i>	<i>Tanticharoemia sakaeratensis</i>		

---

(Kaashyap et al, 2021: p.4446)

<i>Starmella sp.</i>	<i>Gluconobacter nephelii</i>
<i>Galiella rufa</i>	<i>Gluconobacter morfiber</i>
<i>Hanseniaspora sp.</i>	<i>Acetobacteraceae bacterium</i>
<i>Zygosaccharomyces microellipsoides</i>	<i>Acetobacter orientalis</i>
<i>Microidium phyllanthi</i>	<i>Ameyamaea chiangmaiensis</i>
<i>Zygosaccharomyces kombuchaensis</i>	<i>Acetobacter persicus</i>
<i>Kregervanrija delftensis</i>	<i>Acidomonas methanolica</i>
<i>Kloeckera lindneri</i>	<i>Asaia Krungthepensis</i>
<i>Hanseniaspora valbyensis</i>	<i>Asaia astilbis</i>
<i>Nakazawaea ernobii</i>	<i>Tantichaorenia sakaeratensis</i>
<i>Malassezia restricta</i>	<i>Gluconacetabacter medellensis</i>
<i>Geotrichum klebahnii</i>	<i>Swingsnia samueiensis</i>
<i>Kurtzmaniella sp.</i>	<i>Gluconacetobacter entanni</i>
<i>Cryptococcus saitoi</i>	<i>Gluconacetobacter rhaeticus</i>
	<i>Gluconacetobacter intermedius</i>
	<i>Acetobacter estunensis</i>

---

(Zhao et al., 2018: pp.732-741)

<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Gluconacetobacter saccharivorans</i>	<i>Lactobacillus fermentum</i>
<i>Arxula adenivorans</i>	<i>Gluconacetobacter sp.</i>	
	<i>Gluconacetobacter europaeus</i>	
	<i>Acetobacter aceti</i>	

---

(Gaggia et al., 2019: p.7)	<i>Zygosaccharomyces parabailli</i> <i>Dekkera bruxellensis</i>	<i>Komagataeibacter saccharivorans</i> <i>Komagataeibacter intermedius</i> <i>Komagataeibacter rhaeticus</i>	
(Ireneusz et al., 2022: p.1523)	<i>Candida vini</i> <i>Schizosaccharomyces pombe</i> <i>Pichia membranefaciens</i> <i>Kloeckera apiculata</i> <i>Kluyveromyces marxianus</i> <i>Pichia kluyveri</i>	<i>Gluconacetobacter xylinus</i> <i>Acetobacter xylinum</i> <i>Bacterium gluconicum</i> <i>Gluconobacter oxydans</i> <i>Acetobacter nitrogenifigens</i> <i>Gluconacetobacter kombucha</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
(De Filippis., et al, 2018: pp.11-16)	<i>Hanseniaspora vineae</i> <i>Torulaspora delbrueckii</i>	<i>Gluconacetobacter spp.</i>	<i>Lactococcus sp.</i> <i>Streptococcus sp.</i>
(Yang et al., 2022: p.670)	<i>Trigonopsis variabilis</i> <i>Issatchenkia orientalis</i> <i>Cyberlindnera jadinii</i> <i>Trigonopsis variabilis</i>	<i>Gluconacetobacter liquefaciens</i> <i>Komagataeibacter rhaeticus</i> <i>Gluconobacter japonicus</i> <i>Gluconobacter frateurii</i> <i>Komagataeibacter oboediens</i>	<i>Bacillus coagulans</i> <i>Lactobacillus nagelii</i> <i>Lactacillus mali</i> <i>Bifidobacterium longum</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i>
(Filofteia et al., 2020: p.1780; Pei et al., 2020: p.1)			<i>Pediococcus pentosaceus</i> <i>Pediococcus acidilactici</i> <i>Lactobacillus plantarum</i>

Realizado por: (Montero, Luis, 2022)

#### **2.3.4 Composición química de la kombucha**

Dentro de la composición química de la kombucha, existen factores que pueden alterar y afectar la composición y concentración de los metabolitos, entre estos se encuentra: el tiempo de fermentación, la concentración del té, azúcar, la temperatura y el inóculo (Barbosa et al., 2019, p.468). Entre los componentes de mayor importancia que puede llegar a aportar la bebida es el ácido glucurónico, este ácido es un paso vital en el metabolismo de las hormonas esteroideas y de la adrenalina, además, de acuerdo con informes, puede llegar a ser útil contra la enfermedad de la artritis. Es por ello, por lo que el ácido glucurónico es uno de los componentes más impactantes que llega a tener la kombucha, debido a su metabolismo farmacológico (Ansari et al., 2019; citados en Mojtaba et al., 2020: p.2).

Otro componente importante dentro de la kombucha es el ácido etanoico (ácido acético) considerado una “plataforma química vital”, este compuesto ha sido utilizado hace mucho tiempo atrás como mecanismo de conservación de alimentos, entre sus características más relevantes se mencionan las siguientes: es un ácido transparente, incoloro, corrosivo y de olor acre y amargo. Hoy en día la alta demanda de este ácido ha sido asociada por su importancia medicinal, es por ello, la importancia de consumir el té fermentado denominado “kombucha”. El ácido etanoico es el principal producto que se obtiene como resultado de la fermentación (Khosravi et al., 2019; citados en Mojtaba et al., 2020: p.2).

De forma general, la kombucha presenta una amplia variedad de compuestos químicos, inclusive se encuentran polifenoles de sustrato: azúcares como sacarosa, glucosa y fructosa, ácidos orgánicos entre estos se encuentran el ácido acético, glucónico, cítrico, L-láctico, málico, tartárico, malónico, oxálico, succínico y pirúvico; fibra; etanol, aminoácidos; aminos biogénicos; purinas; pigmentos; lípidos; proteínas; elementos esenciales como es el cobre, hierro, manganeso, níquel y zinc; vitaminas B1, B2, B6, B12 y C; dióxido de carbono, sustancias antibióticas y enzimas hidrolíticas (Kapp & Summer, 2019: pp.66-70). A continuación, en la tabla 3-2 se observa la composición química de la kombucha.

**Tabla 3-2:** Composición química de la kombucha

	<b>Compuesto</b>	<b>Promedio de Composición</b>	<b>Sacarosa Inicial</b>	<b>Tiempo de fermentación (días)</b>
	Ácido acético	5,6g/L	70g/L	15
	Ácido acético	8,36g/L	100g/L	18
<b>Ácidos Orgánicos</b>	Ácido acético	11g/L	100g/L	30
	Ácido glucónico	39g/L	100g/L	60
	Ácido glucurónico	0,0160g/L	70g/L	21
	Ácido láctico	0,18g/L	100g/L	18
	Vitamina B1	0,74mg/ml	70g/L	15
	Vitamina B2	8mg/100ml	70g/L	10
<b>Vitaminas</b>	Vitamina B6	0,52mg/ml	70g/L	15
	Vitamina B12	0,84mg/ml	70g/L	15
	Vitamina C	25mg/L	70g/L	10
	Etanol	5,5g/L	100g/L	20
<b>Compuestos Generales</b>	Proteína	3mg/ml	100g/L	12
	Polifenoles de té	GAE de 7,8mm	100g/L	15
<b>Minerales</b>	Cu, Fe, Mn, Ni, Zn	0,1 a 0,4µg/mL	70g/L	15
	Br <sup>-</sup> , Cl <sup>-</sup> , Br <sup>-</sup> , I <sup>-</sup> ,			
<b>Aniones</b>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , HPO <sub>4</sub> <sup>-</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	0,04 a 3,20mg/g	100g/L	7

Fuente: (Villarreal-Soto et al., 2018: pp.580-588)

#### 2.3.4.1 Ácido glucurónico

Es un ácido carboxílico que se forma al oxidarse la glucosa, es uno de los componentes más importantes y valiosos de la kombucha. Por lo general, este ácido se forma en el hígado del ser humano, siendo así, un desintoxicante natural. Una de las características más relevantes es que puede unirse a los xenobióticos incluso a los fenoles presentes en el hígado, lo cual genera que el riñón pueda excretar de forma eficiente una mayor cantidad de esta sustancia. Además, el ácido glucurónico es un precursor de la vitamina C (Jayabalan et al., 2014: pp.538-550).

#### 2.3.4.2 *Ácido glucónico*

Es un ácido producido por hongos y bacterias a partir de glucosa, mediante el proceso de oxidación, lo que le otorga la capacidad de preservar alimentos (Han, 2020, p.1). Cabe destacar que, el ácido glucónico juega un papel muy importante en la parte sensorial de la bebida de kombucha (Li et al., 2022: pp.4-5).

#### 2.3.4.3 *Ácido Acético*

Es una sustancia ampliamente utilizada en las industrias alimentaria, química, textil e incluso en la farmacológica (PCC Group, 2021, p.1). La kombucha, al estar formado por una simbiosis de microorganismos del género *Acetobacter*, genera como subproducto de la fermentación lo que se conoce como ácido acético, el cual, su ingrediente activo es el vinagre. Los beneficios que llega aportar esta sustancia son: Reduce los niveles de insulina después de una comida, posee polifenoles que se encarga de evitar el estrés oxidativo, elimina bacterias patógenas que se encuentran en el intestino y ayuda al crecimiento de las bacterias benéficas, entre otros (InBody, 2018, p.1).

### 2.3.5 **Fermentación**

Es un proceso catabólico realizado por seres vivos (bacterias, levaduras o células de animales) o no vivos (enzimas), que se encaran de romper las estructuras de los compuestos orgánicos mediante reacciones en ausencia de oxígeno para obtener energía. La fermentación ha sido un método aplicado desde la antigüedad para la conservación de los alimentos, aunque, es uno de los menos comprendidos (Morales, 2014, p.41).

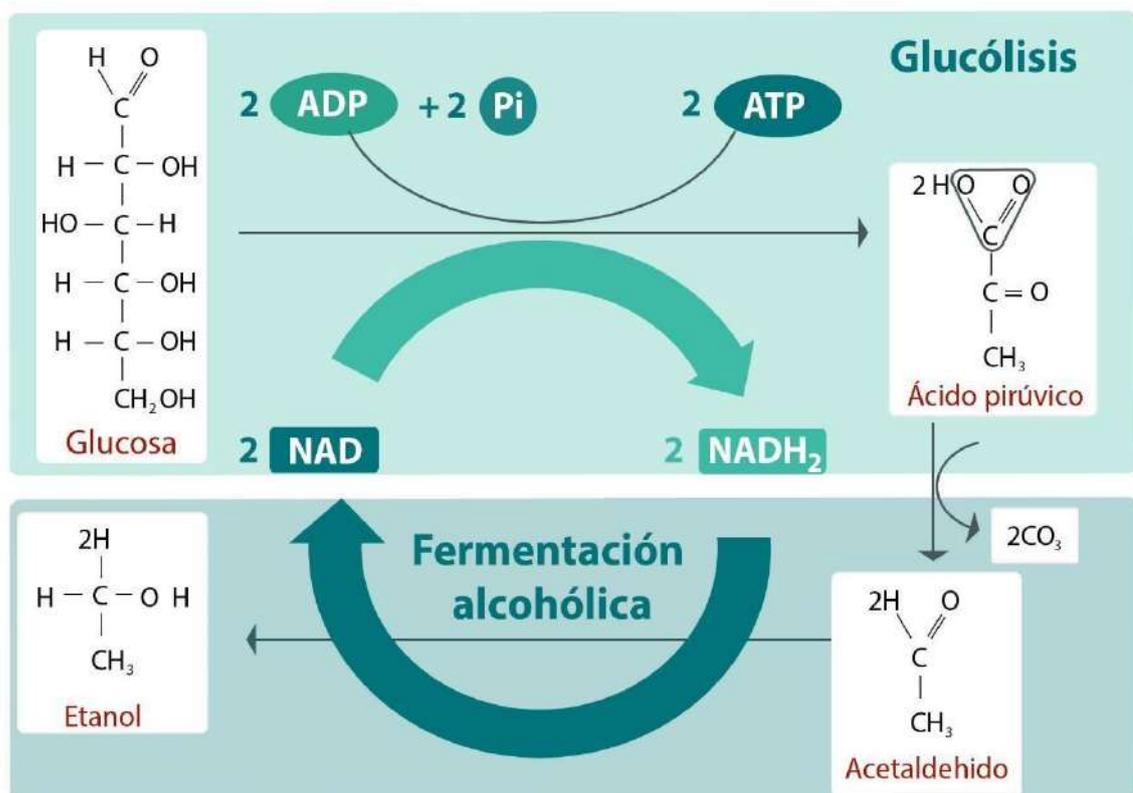
Según (Redzepi & Zilber, 2018; citados en Granda & Estupiñán, 2019: p.23), la fermentación es un proceso en el que se transforma un alimento por medio de enzimas producidas por microorganismos, en otras palabras, los microorganismos transforman el azúcar en otra sustancia en ausencia de oxígeno.

En la kombucha, se produce un proceso catabólico de oxidación de sustancias orgánicas, lo cual, genera como resultado la producción de compuestos orgánicos y energía, además, las moléculas generadas de ATP propias de la fermentación, son consumidas por los mismos microorganismos, siendo los carbohidratos los principales sustratos (glucosa, fructosa), los cuales se obtienen de la pulpa de las frutas (Helmenstine, 2020, p.1).

En la fermentación de kombucha, existen factores críticos que pueden afectar al producto final, como la temperatura, el oxígeno, CO<sub>2</sub>, tiempo, pH, concentración de azúcar, el tipo de infusión, estructura del hongo del té, entre otros, cualquiera de estas variantes puede afectar en las propiedades organolépticas, fisicoquímicas, el rendimiento, la calidad nutricional y la actividad biológica de la kombucha (Villareal-Soto et al., 2018; citados en Granda & Estupiñán, 2019: pp.23-24).

### 2.3.5.1 Fermentación alcohólica

Es un proceso anaeróbico en el que intervienen levaduras, mohos e incluso algunas bacterias que se encargan de generar cambios en sustancias orgánicas. Las levaduras se encargan de transformar los carbohidratos (azúcares: glucosa, fructosa, sacarosa, almidón, etc.), en etanol (CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-OH), dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) y ATP, este a su vez, es consumido por los mismos microorganismos en su metabolismo celular energético anaeróbico. El objetivo de la fermentación alcohólica es proporcionar energía anaeróbica a los microorganismos a partir de un azúcar (glucosa) (Vázquez & Dacosta, 2007: pp.252-253).



**Ilustración 2-2:** Fermentación alcohólica

Fuente: (Portal académico CCH, 2017, p.1)

### 2.3.5.2 Fermentación acética

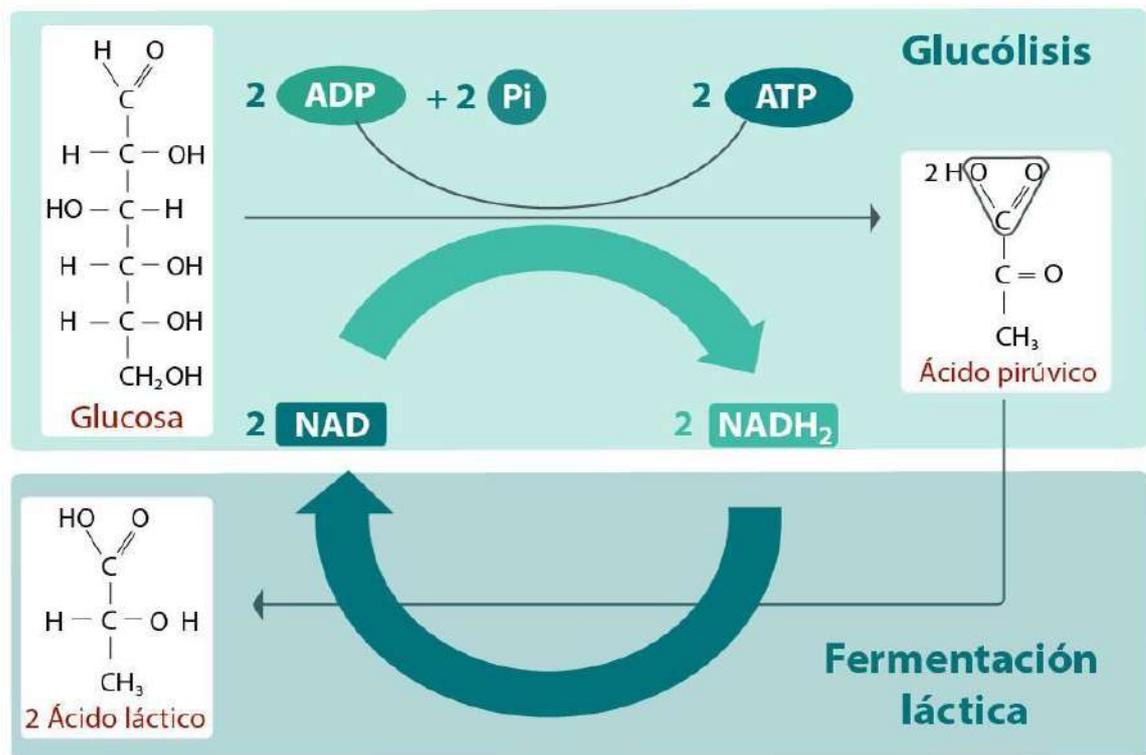
Es producida por bacterias aerobias del género *Acetobacter*, las cuales se diferencian de las levaduras que producen alcohol en ausencia de oxígeno, estas requieren una cantidad alta de O<sub>2</sub> para su crecimiento y actividad metabólica. El proceso metabólico se basa en la conversión de etanol en acetaldehído (RX catalizada por la enzima alcohol deshidrogenasa) y del acetaldehído hidratado en ácido acético por el mecanismo de la enzima acetaldehído deshidrogenasa (Yabalan, 2007; citados en Morales, 2014: p.43).



### 2.3.5.3 Fermentación láctica

Para continuar con el proceso de la glucólisis, es necesario pasar por la ruta del metabolismo del piruvato, en el cual, para obtener lactato debe pasar por la fermentación láctica. La glucólisis en su proceso metabólico necesita de la glucosa y de la encima NAD<sup>+</sup> (nicotinamida adenina dinucleótido), pero cuando no hay la presencia de oxígeno, el NADH<sup>+</sup> no puede reoxidarse a NAD<sup>+</sup> (se detiene el proceso de glucólisis), debido a que este es el último aceptor de electrones, lo cual, lo hace imprescindible para la oxidación del piruvato. En estas circunstancias el piruvato se reduce a lactato, aceptando los electrones del NADH y regenerando así en NAD<sup>+</sup> para continuar con el proceso de la glucólisis y obtener energía en forma de ATP's. En sí, la fermentación láctica es responsable de la elaboración de productos lácteos acidificados, entre otros, una de las características es el poder de conservar los alimentos debido al descenso del pH (Portal académico CCH, 2017, p.1).

Las LAB ocupan la glucosa mediante la vía Embden-Meyerhof-Parnas para obtener ácido láctico (homofermentación), o la vía del fosfato pentosa (heterofermentación) donde se obtiene ácido láctico, etanol y CO<sub>2</sub>, y con la fructosa se utiliza para producir etanol en vez de ácido acético (Laureys et al., 2019: pp.165-174).



**Ilustración 3-2:** Fermentación láctica

Fuente: (Portal académico CCH, 2017, p.1)

### 2.3.6 Puntos críticos en la fermentación de kombucha

#### 2.3.6.1 Sustrato

El sustrato tradicional de la kombucha es el té negro o té verde, con un 5 a 8% de sacarosa, existen estudios en los cuales exponen que se puede utilizar los desechos de té para la elaboración de la bebida, además, la infusión de té verde o negro le otorga propiedades estimulantes que aceleran el proceso de fermentación, lo cual genera que la fermentación de la kombucha se de en un menor tiempo (Jayabalan et al., 2014; citados en Granda & Estupiñán, 2019: p.24).

El té verde o te negro presenta una alta concentración de taninos. Los taninos son moléculas complejas, conocidos como polifenoles, sus efectos sobre las membranas mucosas son astringentes y condensantes. Los taninos generan que la producción de alcohol sea baja, es por ello, por lo que se utiliza a nivel mundial este tipo de té de hierbas, a diferencia de otros que contienen una mayor cantidad de aceites volátiles y de esporas que el té normal, esto llega a intervenir con las bacterias que se encuentran en la kombucha, ya que genera que el producto final sea de baja calidad (Stevens, 2003, p.16).

### 2.3.6.2 *Temperatura*

En una investigación realizada en la ciudad de Ambato, fermentaron la kombucha a una temperatura ambiente promedio de 15°C, en el que se obtuvo los mejores resultados a las 209 horas, pero, hay que tomar en cuenta el sustrato utilizado, porque de esto dependen las mejores características en la bebida. El mejor resultado reportado fue al utilizar el tratamiento a1b1 con un preparado de 100g/ de azúcar + 2g/l de té, en el cual influyó en el pH y la acidez debido a la producción de ácidos entre ellos el ácido glucurónico y acético (Vargas, 2011, p.34).

La kombucha jamás debe ser sometida a temperaturas mayores a 35°C, puesto que pueden perder sus preciados nutrientes y su calidad biológica. Las personas que tengan problemas con el azúcar deberán fermentar de forma correcta la kombucha y obtener un vinagre suave, esto se puede llegar a obtener entre 10 a 20 días dependiente la temperatura del ambiente. Por lo general, muchos expertos mencionan que la temperatura óptima para fermentar la kombucha es a 23°C, debido a que, a menor temperatura se obtiene un mejor sabor en la bebida, pero se sacrifica la carbonatación (Rubio, 2007, pp.27-47).

### 2.3.6.3 *Tiempo*

El tiempo de fermentación varía de acuerdo con los resultados a los cuales se quiera llegar, por lo general, se utiliza un promedio de 15 días, es recomendable no una fermentación prolongada debido a que, la acumulación de ácidos orgánicos puede llegar a niveles dañinos para ser consumida. El tiempo de fermentación es responsable de los atributos sensoriales, entre 6 a 10 días se obtiene un sabor frutal, a mayor tiempo se obtiene un sabor avinagrado (Villarreal-Soto et al., 2018; citados en Granda & Estupiñán, 2019: p.25).

Según (Rubio, 2007, pp.27-47) para obtener una buena “madre de kombucha”, es necesario al menos 12 días a una temperatura ambiente (23°C), en este tiempo la bebida se tornará altamente ácido, este ácido lo hace que sea medicinal, debido a que, se han formado correctamente todos los ácidos terapéuticos que son específicos para esta bebida. Si la fermentación se lo hace en 7 días, se obtendrá una bebida muy similar a la sidra, algo dulce en el paladar, esto no es recomendable, porque el cultivo puede quedar “algo flojo”, al acortar el ciclo de desarrollo de las bacterias estas se reducen, mientras las levaduras son fermentadas generando que a largo tiempo el cultivo se debilita, es por ello que, si se desea una bebida dulce es recomendable hacer por un lado el cultivo y por el otro la bebida en recipientes diferentes.

En un estudio realizado en la ciudad de Ambato se obtuvo que el tiempo de fermentación óptima en la “kombucha” es de 209 Horas, el cual se encuentra bordeando el tiempo óptimo de 240 a 288 horas según (Vargas, 2011, pp.1-93).

#### 2.3.6.4 *Sacarosa*

El azúcar, es un componente importante en la actividad metabólica de la kombucha. Los microorganismos se alimentan de ello, de lo cual les permite obtener energía, además, otra fuente de energía se lo adquiere de los minerales y del nitrógeno que se extrae del líquido de las hojas del té. Por lo general, las personas que padecen problemas de diabetes dejan un tiempo más prolongado la fermentación, para así obtener un contenido bajo de azúcar o en su mayoría fructosa (Shenoy et al., 2019, p.1).

Los sólidos solubles se componen de azúcares, sales, ácidos y otros compuestos orgánicos presentes en el interior de la fruta (Flores, 2021, p.1). Los grados Brix (°Bx) se encarga de medir la dulzura de un alimento, es una escala que mide la cantidad de sacarosa disuelta como porcentaje de solución total. Se recomienda un valor de 12 °Brix como lo ideal para obtener una bebida equilibrada, que no sea ni muy ácida ni muy dulce (Redzepi & Zilber 2018; citados en Granda & Estupiñán, 2019: p.26). De acuerdo con (Zubaidah, et al., 2019: pp.1-3) el consumo de sólidos solubles es de 1 a 2°Brix de acuerdo con el tiempo de fermentación, en su investigación utilizó diferentes variedades de “snake fruit” y fermentó con kombucha, obteniendo un consumo de azúcares entre 0,87 a 1,05 °Brix, a los 14 días de fermentación.

Es importante destacar que una cantidad elevada de sacarosa no define la producción de la película celulósica (Treviño et al., 2020: pp.119-123; Villarreal-Soto et al., 2018: pp.580-588), debido a que, mientras se aumenta la cantidad de sustrato ocasiona una disminución de la película, porque produce una mayor cantidad de productos metabólicos que genera una inhibición del producto.

#### 2.3.6.5 *pH*

Según (Sreeramulu et al., 2000: pp.2589-2594; Martínez et al., 2018: pp.390-399) la fermentación se lleva a cabo de 7 hasta 60 días, o hasta que alcance un pH óptimo de la bebida “kombucha” entre 3,5 a 4,2 esto es resultado de la formación de ácidos orgánicos (acético, glucurónico, glucónico), los cuales son responsables de la actividad biológica de la bebida. Por otra parte, se menciona que el pH no debe ser menor a 3, ya que puede afectar el sabor (Villarreal-Soto et al., 2018: pp.580-588).

Es importante mencionar que, el pH, no es un indicador que me informa si la “kombucha” ya está lista, lo que, si me demuestra, es que, la fermentación está siguiendo una vía correcta y que la sustancia se está acidificando de forma normal. Cuando la bebida se encuentra por debajo de 4 en el valor del pH, nos quiere decir que es segura, en pocas palabras, no se van a formar mohos o agentes patógenos que pongan en riesgo su consumo, es por eso que, para lograr una correcta acidez inicial es necesario agregar un poco de “kombucha madre o cultivo iniciador” para obtener la acidez ideal y confirmar que el proceso se está llevando de forma idónea (You Brew Kombucha, 2017, p.1).

De acuerdo a la FDA, no se recomienda una fermentación prolongada (7-10 días), en vista de que puede generar un efecto nocivo hacia el consumidor, por la acumulación muy excesiva de ácidos orgánicos, equivalente a beber vinagre sin diluir (PDA, 2017, pp.1-4), además, la duración de la fermentación depende de los atributos sensoriales que se desea, entre 6 a 10 días se obtiene un sabor refrescante afrutada, a lo contrario, mayor a 10 días se obtiene un sabor avinagrado (Villarreal-Soto et al., 2018: pp.580-588).

En muchas investigaciones varía el pH en los resultados, esto se debe a los cambios que se dan a la bebida, pero principalmente por el tipo de té que se utiliza en la preparación, ya que este influye de manera significativa en los parámetros asociados con el potencial antioxidante, el pH, el contenido de ácido acético, alcohol o azúcar (Cujilema, 2021, p.20).

#### *2.3.6.6 Ambiente selectivo*

Para una correcta elaboración de Kombucha es necesario la presencia de oxígeno, porque la fermentación es aeróbica, de esto depende el obtener un cultivo sano y vigoroso. Para la respiración de las colonias de kombucha se lo realiza con el aire circundante y del medio líquido de intercambio, por lo que un té que se encuentre bien oxigenado es una de las formas más eficientes de empezar la fermentación. Para darle oxigenación de forma manual se recomienda utilizar varillas de bambú, palillos chinos u otro utensilio higiénico de madera o en su defecto de plástico adecuado para la alimentación, esto se aplica solo cuando el agua lleva mucho tiempo reposado en botellas o depósitos. El lugar donde se fermentará el té de kombucha debe ser suficientemente aireado, debido a que, de esto dependerá la correcta oxigenación, además, el lugar debe estar libre de contaminantes (humo de tabaco, vapores de productos químicos y de la propia cocina misma que no cuente con extractor y no este ventilada correctamente) (Rubio, 2007, p.29).

### **2.3.7 Preparación de la Kombucha**

La presencia de mohos especialmente en medios líquidos superpone un gran peligro, debido a que permite que las toxinas se propaguen más a fondo, contaminando completamente la bebida (Santillán et al., 2017: pp.1-11). Es por ello que, al momento de elaborar la kombucha se debe utilizar agua purificada o esterilizada, además, el uso de tés limpios y no viejos o de dudosa calidad, ya que estas pueden contener esporas que pueden contaminar la bebida, es por eso que, al ser a una bebida saludable, es necesario tener ingredientes de calidad, porque repercute de forma directa en el producto final (Rubio, 2007, p.53).

#### **2.3.7.1 Preparación de la infusión de té**

Primeramente, hay que tomar en cuenta los tiempos de infusión del té, estos varían del que se use: té verde: 5 minutos, rojo: 7 minutos, negro: 10 minutos, a mayor tiempo de reposo se extrae una mayor cantidad de taninos (más cargado y amargo). En general, mientras mejor sea el té, menor será la temperatura del agua (Rubio, 2007, p.33). El agua se debe llevar a ebullición y de ahí se lo deja por 1 minuto y se apaga, a continuación, se procede a colocar el té de su preferencia y se deja en reposo de acuerdo con el tipo de té utilizado.



**Ilustración 4-2:** Preparación de la infusión de té

**Fuente:** (Llvisaca, 2021, p.24)

#### **2.3.7.2 Endulzado de la infusión**

Una vez preparada la infusión se procede a agregar el azúcar seleccionado (blanca, morena, miel, etc.), esta se deberá mezclar de forma correcta para que quede completamente disuelta, esto se recomienda realizar cuando la temperatura este por debajo de 30°C, exceptuando el azúcar blanco, que se le puede añadir en cualquier momento de la preparación del té (Rubio, 2007, p.33).



**Ilustración 5-2:** Adición de azúcar

**Fuente:** (Llvisaca, 2021, p.25)

### *2.3.7.3 Adición de kombucha madre o cultivo iniciador*

Se coloca la infusión en el recipiente donde se va a fermentar hasta que se enfríe por debajo de los 30°C. De ahí, se agrega entre un 8 a 10% de kombucha madre que se obtiene de una fermentación anterior, esto se realiza para bajar el pH del medio, lográndose así, una acidez apropiada, mediante este proceso se acelera la fermentación y ayuda a la protección contra microorganismos patógenos. En este momento con la ayuda de algún instrumento de madera como un palillo chino o cuchara se comienza a batir para oxigenar el medio, se debe batir enérgicamente hasta formar remolinos en ambos sentidos (Rubio, 2007, p.34).



**Ilustración 6-2:** Incorporación de kombucha madre

**Fuente:** (Llvisaca, 2021, p.26)

#### 2.3.7.4 Adición del Scoby

En el fermentador con la mezcla en su interior se procede agregar el “SCOBY” y se tapa la boca del recipiente con un paño fino que permita el paso de aire (oxígeno), pero no de polvo, esporas, ni insectos, etc. Se coloca en un lugar donde no le dé la luz directa, preferible en un lugar oscuro (Llavisaca, 2021, p.35; Rubio, 2007, p.34).



**Ilustración 7-2:** Adición del SCOBY

Fuente: (Llavisaca, 2021, p.27)

#### 2.3.7.5 Periodo de cultivo y fermentación

El tiempo adecuado para obtener una buena Kombucha es de al menos 15 días, en una temperatura ambiente de alrededor de 23°C, en este tiempo la kombucha se tornará ácida, pero es esta acidez lo que lo convierte en un producto tan saludable, debido a que, si lo hacemos en menos tiempo (7 días) se obtendrá una bebida muy parecida a la sidra, algo dulce pero puede estar aún muy floja, esto ocasionará que en las siguientes tandas, el cultivo se debilitará obteniéndose así una bebida de baja calidad. El tiempo de fermentación varía por la temperatura, la cantidad de cultivo e inclusive la forma del recipiente, hay que recordar que, la oxigenación es fundamental para el cultivo, por lo que, la bebida estará antes en un recipiente bajo y ancho que uno alto y estrecho (Rubio, 2007, p.34).

#### 2.3.7.6 Filtrado

Transcurrido el tiempo de fermentación se saca la bebida y se lo pasa por un tamiz, este no debe ser metálico, una buena opción es de tela. Hay que sacar y guardar el 10% sobre la cantidad que se quiera hacer de nuevo y es recomendado que sea lo primero que se saca, porque la parte

superior se encuentra en equilibrio en bacterias formadoras del cultivo y de los ácidos beneficiosos. Esto servirá como “Kombucha madre” o cultivo arrancador para la siguiente fermentación (Rubio, 2007, p.36).

Si se desea lavar la partícula gelatinosa se recomienda utilizar agua sin cloro o sumergirlo en el té fermentado antes de colocarlo, pero si se desea obtener una bebida más gaseosa no se lo debe lavar, se debe dejar en el fondo con la cantidad adecuada de kombucha madre sin filtrarla. Colar o no colar el té fermentado es opcional, aunque encontremos sedimentos que no tenga un aspecto agradable se trata del propio crecimiento de la levadura. Un aporte extra es beneficioso, tanto en valor nutritivo como probiótico, en caso de no ser muy agradable el cultivo se lo cuela o filtra (Rubio, 2007, p.36).

#### 2.3.7.7 *Envasado*

La bebida se guarda en botellas tapadas en fresco o en el refrigerador, aunque esté a bajas temperaturas, la fermentación continua pero mucho más lenta. Hay que tener cuidado, debido a que, si el recipiente es de vidrio y está cerrado herméticamente la fermentación continua por medio de algunas levaduras anaeróbicas, puede darse el caso que por la acumulación de gas carbónico esta explote, esto es más recurrente cuando la bebida todavía es dulce, para evitar esto es recomendable el uso de tapones de corcho (Rubio, 2007, p.36). Por lo general, en este tipo de bebida, para impulsar su sabor se realiza una segunda fermentación, aquí se le puede agregar frutas, jugos, hierbas, especias, extractos, etc., lo que le dará un mejor sabor a la bebida, las levaduras presentes en la bebida potenciarán el sabor, a la vez agregará CO<sub>2</sub> a la bebida en un proceso de anaerobiosis entre 1 a 14 días (Graham, 2020, p.1).



**Ilustración 8-2:** Embotellado

**Fuente:** (Llvisaca, 2021, p.28)

### 2.3.8 Actividad antibacterial

Existen estudios donde utilizan la kombucha para inhibir el crecimiento de *Escherichia coli* como es el caso de (Laurenson et al., 2021: pp.6143-6146; Kaewkod et al., 2019: p.700) quienes utilizaron la kombucha para reducir el crecimiento de *E. coli* en los efluentes de establos lácteos y compararon 3 tipos de té para la inhibición de bacterias patógenas incluida la *E. coli*, obteniendo un halo de inhibición con té negro de 20-21,3mm, de la misma manera (Arruda et al., 2020: pp.1-13) quien se basó en el desarrollo y análisis microbiológicos y físico-químicos de una bebida de kombucha con sabor a uva, donde destaca, que no hubo la presencia de coliformes totales, ni coliformes termotolerantes y *Salmonella*, donde utilizaron la técnica de tubo múltiple, mostrando la eficacia al utilizar la kombucha, como un bactericida o bacteriostático frente a microorganismos patógenos.

En la investigación realizada por (Ayed et al., 2017: pp.111-121) quienes utilizaron jugo de uva roja y lo fermentaron con kombucha, llegaron a la conclusión de que las bebidas elaboradas a partir de la simbiosis de bacterias y levaduras (SCOBY), pueden llegar a inhibir a microorganismos patógenos como son: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus* e incluso *Staphylococcus aureus*. De la misma forma (Khaleil et al., 2020: pp.1204-1210) demostró que la kombucha sirve para inhibir el crecimiento de bacterias patógenas al fermentarla con guayaba, entre estos se destaca la *Klebsiella sp.*, generando un diámetro de inhibición de  $26,98 \pm 0,09$  mm.

De acuerdo con (Villamar, 2021, p.67; Carvajal, 2019, p.55; Guzmán, 2021, p.46) obtuvieron un valor de <10 UFC/ml y de <3 NMP/ml, valores que se ubican dentro del rango permitido por la norma (NTE INEN 2395, 2011, pp.3-4). Incluso, se puede utilizar la kombucha como un aditivo (2 - 4% v/v de inóculo) y agregarle a jugos (manzana, guayaba, fresa y tomate) y de esta forma obtener un bioconservante que inhiba el crecimiento de bacterias patógenas (Al-Mohammadi et al., 2021: pp.5-13). Esto nos demuestra que muchas frutas al ser ricas en compuestos bioactivos principalmente polifenoles, antioxidantes, ayudan en el proceso de fermentación a inhibir el crecimiento de bacterias no deseadas, como es el caso de las catequinas, propias de algunas frutas y del té negro que es la base de la kombucha, así lo menciona (Wu & Brown, 2021: pp.2-3) quien utilizó galato de epigallocatequina (EGCG) para inhibir patógenos obteniendo resultados satisfactorios con *E. coli*, *P. aeuruginosa*, esto nos demuestra que los compuestos bioactivos de la kombucha contribuyen a la eliminación de microorganismos no deseados.

### **2.3.9 Beneficios de la Kombucha**

En varios reportes provenientes de consumidores e investigaciones rusas (Jayabalan et al., 2014: pp.538-550) señala los principales efectos del consumo de la bebida denominada “kombucha”:

- Desintoxicación de la sangre
- Reducción de los niveles de colesterol
- Reducción de la aterosclerosis por regeneración de las paredes celulares.
- Reducción de la presión arterial
- Reducción de los problemas inflamatorios
- Alivio de la artritis, el reumatismo y los síntomas de gota
- Promoción de las funciones hepáticas
- Normalización de la actividad intestinal, equilibra la flora intestinal, cura las hemorroides
- Reducción de la obesidad y regulación del apetito
- Prevención/curación de la infección de la vejiga y reducción de la calcificación renal
- Estimulación de los sistemas glandulares
- Protección contra la diabetes
- Aumento de la resistencia del cuerpo al cáncer
- Efecto antibiótico contra bacterias, virus y levaduras
- Mejora el sistema inmunológico y estimula la producción de interferón
- Alivio de la bronquitis y el asma
- Reducción de los tratamientos menstruales y los sofocos de la menopausia
- Mejora la salud del cabello, la piel y las uñas
- Reducción en el deseo de alcohol en un alcohólico
- Alivio de dolores de la cabeza
- Mejora la visión
- Contrarresta el envejecimiento
- Mejora el metabolismo en general

### **2.4 Chirimoya (*Annona cherimola*)**

Es un fruto de origen tropical, con una forma cónica, oval, esférica o en forma de corazón de 7,5 a 12,5cm de longitud y con un peso de 150g a 1kg. La piel es reticulada de color verde, la parte comestible es su pulpa blanca, esta es dulce y muy aromática, por lo general, se consume crudo, aunque se puede elaborar productos como mermeladas batidas, o helado (Frutas & Hortalizas, 2022, p.1).



**Ilustración 9-2:** Chirimoya (*Annona cherimola*)

Fuente: (Garcés, 2020, p.1)

#### 2.4.1 Taxonomía

Algunos de los aspectos de la especie *Annona cherimola* relacionados con la sistemática se observa en la tabla 4-2.

**Tabla 4-2:** Clasificación taxonómica de la Chirimoya.

Clasificación	Descripción
<b>Clase</b>	Equisetopsida C. Agardh
<b>Subclase</b>	Magnoliidae Novak ex Takht
<b>Superorden</b>	Magnolianaes Takht
<b>Orden</b>	Magnoliales Bromhead
<b>Familia</b>	Annonaceae
<b>Género</b>	Annona
<b>Especie</b>	Cherimila Mill.

Fuente: (Villamarin, 2020, p.22)

#### 2.4.2 Composición nutricional

Dentro de la composición nutricional de la chirimoya (*Annona cherimola*), se encuentra su contenido elevado en carbohidratos, llegando a un valor de 22%, un valor muy significativo a comparación de la mayoría de frutas que llegan como máximo a un 5%, es así que se convierte en una fuente de energía ideal para la simbiosis de microorganismos conocidos como “Scoby”, además, esta fruta aporta con proteína, fibra, vitaminas y minerales, convirtiéndole en un fruto por excelencia, como se observa en la tabla 5-2.

**Tabla 5-2:** Composición nutricional de la chirimoya.

Componente	Unidad	Concentración
Agua	%	75,7
Carbohidratos	%	22,0
Fibras	%	1,8
Proteínas	%	1,0
Cenizas	%	1,0
Grasas	%	0,1
Fósforo	%	47,0
Calcio	mg	24,0
Hierro	mg	0,4
Vitamina A	UI	10,0
Tiamina	mg	0,06
Riboflavina	mg	0,14
Niacina	mg	0,75
Vitamina C	mg	18,0
Calorías	Kcal	81,0

Fuente: (Kawamata, 1977, pp.53-67)

### 2.4.3 *Compuestos bioactivos*

#### 2.4.3.1 *Compuestos fenólicos*

En una investigación realizada por (López, 2021, p.66) expone que, el contenido de compuestos bioactivos es alto, entre estos sobresalen los compuestos fenólicos (mg EAG (Equivalentes de Ácido Gálico) 100 g<sup>-1</sup> p.f.), se reporta un valor de  $366.27 \pm 2.934$  en peso fresco, pero en peso seco el valor aumenta a (1494.3 mg EAG 100 g<sup>-1</sup> p.s.), por lo cual, se lo categoriza como un fruto con un alto contenido de compuestos fenólicos. La importancia de los compuestos fenólicos radica en que aportan con beneficios biológicos para el hombre, tales como, la prevención de enfermedades cardiovasculares y enfermedades regenerativas (Moreno et al., 2014: pp.41-48).

#### 2.4.3.2 *Flavonoides*

El contenido de flavonoides (mg EQ (Equivalentes de Quercetina) 100 g<sup>-1</sup> p.f.) reportado por (López, 2021, p.66) es de  $1.840 \pm 0.692$  en peso fresco, lo cual es un valor bajo a comparación de otras frutas como es el caso de la guanábana y chincuya, pero hay que tenerlo en cuenta, debido

a que, posee en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos, lo cual le otorga excelentes “propiedades de quelación del hierro y otros metales de transición” esto le otorga una gran capacidad antioxidante (Martínez et al., 2002: pp.271-272) los flavonoides y otros compuestos bioactivos se obtienen exclusivamente de la alimentación, el ser humano no lo puede sintetizar de forma natural. Al ser considerado como antioxidante cumple un rol importante en la protección frente a daños oxidativos, a la vez, presenta efectos terapéuticos en la que se incluyen la cardiopatía esquémica, la aterosclerosis o el cáncer (Martínez et al., 2002: p.272).

#### 2.4.3.3 Ácido ascórbico

En un estudio realizado por (López, 2021, p.66) determinaron la cantidad de ácido ascórbico presente en la chirimoya, el valor obtenido del ácido en (mm EAA (Equivalentes de Ácido Ascórbico) - 100 g<sup>-1</sup> p.f.) es de  $48.36 \pm 0.556$ , el valor reportado es mayor a frutas como: limón y piña e igual al de la naranja, es por ello que se recomienda incluir en la dieta frutos de *Anonáceas* por el aporte en los requerimientos diarios. El ácido ascórbico es un nutriente esencial para la síntesis del colágeno y es un cofactor en la biosíntesis de las catecolaminas, L-carnitina, colesterol, aminoácidos y algunas hormonas peptídicas (López, 2021, p.68).

## 2.5 Pepino Dulce (*Solanum muricatum*)

El pepino dulce también conocido como pepino melón, esta fruta se caracteriza por su suave sabor, la forma ideal de consumir la fruta es con toda la cáscara, pero lo mejor es optar por el pepino dulce orgánico, ya que no contenga ningún residuo de pesticidas (Vera, 2017, p.1).



**Ilustración 10-2:** Pepino dulce (*Solanum muricatum*)

Fuente: (Vera, 2017, p.1)

### 2.5.1 Taxonomía

Algunos de los aspectos de la especie *Solanum muricatum* relacionados con la sistemática se observa en la tabla 6-2.

**Tabla 6-2:** Clasificación taxonómica del pepino dulce

<b>Clasificación</b>	<b>Descripción</b>
<b>Reino</b>	Plantae
<b>División</b>	Magnoliophyta
<b>Clase</b>	Mangoliopsida
<b>Orden</b>	Solanales
<b>Familia</b>	Solanáceas
<b>Género</b>	Solanum
<b>Subgénero</b>	Potatoe
<b>Especie</b>	S. muricatum

Fuente: (Vallejo, 2015, p.4)

### 2.5.2 Composición Nutricional

El pepino dulce (*Solanum muricatum*), se destaca por su alto contenido en agua (92,3%), lo cual, lo hace un alimento ideal para personas con problemas de retención de agua, este fruto es muy rico en vitamina C, además, aporta con otros nutrientes (carbohidratos, fibra, vitaminas, minerales, etc.) como se observa en la tabla 7-2.

**Tabla 7-2:** Composición nutricional del pepino dulce (100 g)

<b>Componente</b>	<b>Unidad</b>	<b>Concentración</b>
Calorías	Kcal	26
Agua	%	92,3
Proteínas	g	0,3
Carbohidratos	g	7
Fibra	g	0,5
Cenizas	g	4,4
Calcio	mg	30
Fósforo	mg	10
Hierro	mg	0,3
Vitamina A	mg	3,17
Vitamina C	mg	29,70

Fuente: (Siicex, 2014, p.1)

### 2.5.3 *Compuestos bioactivos*

#### 2.5.3.1 *Compuestos fenólicos*

En una investigación realizado por (Guerrero, 2012, p.45) ha medido la cantidad de compuestos fenólicos que están presentes en el pepino dulce como se observa en la tabla 8-2.

**Tabla 8-2:** Contenido de compuestos fenólicos en el Pepino dulce

<b>Cultivo ancestral andino</b>	<b>(±SD) expresada en mg GA/100g de fibra dietética</b>
Pepino dulce cáscara	39394,98 ± 1382
Pepino dulce pulpa	51299,78 ± 3134
Pepino dulce completo	89309 ± 957

±SD: Desviación estándar GA: ácido gálico

**Fuente:** (Guerrero, 2012, p.45)

En varios estudios se menciona que el aroma agradable del pepino dulce es muy similar al del melón, esto es resultado de una compleja combinación de compuestos volátiles, dentro de estos se han identificado más de 30 compuestos entre estos sobresale los acetatos de los alcoholes 3-metil-2-buten-1-ol y 3-metil-buten-1-ol, junto con los acetatos de hexilo, butilo y propilo. Existen varios estudios que le otorgan biocompuestos al pepino dulce, como propiedades nutraceuticas, antioxidantes, anti-diabéticas, anti-inflamatorias y anti-tumorales (Tapia, 2021, p.30).

### 2.5.4 *Beneficios*

De acuerdo con (Vera, 2017, p.1) los beneficios que aporta el pepino dulce son los siguientes:

- Posee un alto contenido de vitamina C, lo que evita la aparición del escorbuto por la deficiencia de esta vitamina.
- Es rico en vitamina A, por lo que mejora la visión, fortalece los huesos y dientes.
- Es un alimento rico en fibra y calcio, por lo cual evita problemas de estreñimiento.
- Por su alto contenido de agua (92%), presente propiedades diuréticas, lo cual es recomendable consumir en personas que padecen problemas de retención de líquidos.
- Contiene polifenoles llamados lignanos (pinoresinol, lariciresinol y secoisolariciresinol), esto podría ayudar a reducir el riesgo de cáncer de mama, próstata, útero, ovario y próstata.
- Este fruto es un buen antiinflamatorio, debido a que, ayuda a tener un mejor dormir.

## CAPÍTULO III

### 3 MARCO METODOLÓGICO

#### 3.1 Localización y duración del experimento

El trabajo de investigación se realizó en los laboratorios de la Facultad de Ciencias Pecuarias, ESPOCH, ubicada en Av. Panamericana Sur km 1 1/2 en la ciudad de Riobamba, provincia de Chimborazo, Ecuador. En la cual se dio uso de las instalaciones de:

- Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Animal (LABIMA).
- Laboratorio de Bromatología.
- Laboratorio de Alimentos

El trabajo experimental tuvo una duración de 80 días.

#### 3.2 Unidades experimentales

Cada unidad experimental estuvo formado por 1L de bebida probiótica, utilizando en total 16 litros, mismos que fueron distribuidos en 4 tratamientos con 4 repeticiones.

#### 3.3 Materiales, equipos e insumos

##### 3.3.1 *Materiales*

- Guantes
- Mascarilla
- Mandil
- Cofia
- Vaso de precipitación
- Pipetas
- Micropipetas
- Cajas petri
- Recipientes de vidrio
- Pera de succión

- Bureta
- Pipeta pasteur
- Porta objetos
- Piseta
- Probeta
- Tubos de ensayo
- Gradilla para tubos
- Soporte universal
- Espátula
- Frasco termo-resistente
- Pinzas
- Aza de siembra
- Marcador
- Embudo
- Cuchillo
- Colador
- Picnómetro
- Toallas de papel
- Liga o goma
- Papel de aluminio

### **3.3.2 Equipos**

- Cabina de flujo laminar
- Balanza analítica
- Vortex
- Potenciómetro
- Refractómetro
- Autoclave
- Refrigerador
- Cuenta colonias
- Reverbero
- Microscopio

### 3.3.3 Insumos

- Fenolftaleína
- NaOH 0,1 N
- Scoby
- Solución buffer
- Agua destilada
- Alcohol 92°
- Frutas (chirimoya y pepino dulce)
- Agar (MacConkey, PDA, MRS)

### 3.4 Tratamientos y diseño experimental

#### 3.4.1 Tratamientos

En la investigación se evaluaron 4 tratamientos en los cuales se incluyen diferentes niveles ascendentes de pulpa de chirimoya (5%, 10% ,15%), el cual se comparó con un tratamiento testigo (0%). Además, a cada tratamiento se le adicionó un valor constante de pulpa de pepino dulce (10%), de la misma forma se adicionó el 5% de Scoby para todos los tratamientos, el tiempo de fermentación empleado fue de 8 días a una temperatura de 14°C. Como se observa en la tabla 1-3, donde se especifica cada uno de los tratamientos.

**Tabla 1-3:** Esquema del experimento

Tratamientos	Códigos	Repeticiones	T.U.E (L)	Total (L)
0% pulpa de chirimoya	T0	4	1	4
5% pulpa de chirimoya	T1	4	1	4
10% pulpa de chirimoya	T2	4	1	4
15% pulpa de chirimoya	T3	4	1	4
<b>Total, litros de bebida probiótica</b>				<b>16</b>

T.U.E: Tamaño de la unidad experimental (1L)

**Realizado por:** (Montero, Luis, 2022)

### 3.4.2 *Diseño Experimental*

Las unidades experimentales se distribuyeron bajo un diseño completamente al azar (DCA), mismo que cuenta con 4 tratamientos con 4 repeticiones y que para su análisis se ajustó al siguiente modelo lineal aditivo.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

Donde:

**Y<sub>ij</sub>**: valor estimado de la variable.

**μ**: media general.

**T<sub>i</sub>**: efecto de diferentes niveles de pulpa de chirimoya.

**E<sub>ij</sub>**: Error experimental o efecto de la aleatorización de los tratamientos en el campo experimental.

## 3.5 Mediciones experimentales

### 3.5.1 *Análisis fisicoquímico*

De acuerdo con la norma (NTE INEN 1101, 2017, p.2; DUS 2037, 2018, p.3)

- pH
- Sólidos solubles (°Brix)
- % Acidez total (g/100ml)
- % Alcohol

### 3.5.2 *Análisis microbiológico*

De acuerdo con la norma (NTE INEN 2395, 2011, pp.3-4)

- Recuento de Coliformes totales (UFC/ml)
- Recuento de *E. coli* (UFC/ml)
- Recuento de mohos y levaduras (UFC/ml)
- Conteo de bacterias probióticas (UFC/ml)

### 3.5.3 *Análisis organoléptico*

- Color
- Olor
- Sabor
- Apariencia

### 3.5.4 *Análisis económico*

- Costo de producción (dólares norteamericanos/L)
- Beneficio/Costo (B/C)

## 3.6 **Análisis estadístico y prueba de significancia**

Para analizar los resultados obtenidos en las mediciones experimentales se aplicaron los siguientes análisis estadísticos:

- Estadística descriptiva con medidas de tendencia central y de dispersión.
- Análisis de varianza (ADEVA).
- Prueba de separación de medias TUKEY ( $P \leq 0,05$ ).
- Prueba de Friedman (prueba no paramétrica).

En la tabla 2-3 se presenta el esquema del análisis de varianza (ADEVA), que se aplicó al diseño completamente al azar.

**Tabla 2-3:** Esquema del ADEVA

<b>Fuentes de variación</b>	<b>GL</b>
<b>Total</b>	15
<b>Niveles de pulpa de chirimoya</b>	3
<b>Error</b>	12

Realizado por: (Montero, Luis, 2022)

### 3.7 Procedimiento experimental

#### 3.7.1 Elaboración de la bebida probiótica a base de pulpa de chirimoya (*Annona cherimola*)

En la tabla 3-3, se observa la formulación para la elaboración de la bebida probiótica.

**Tabla 3-3:** Formulación de la bebida probiótica con diferentes niveles de pulpa de chirimoya

Pulpa de chirimoya	Ingredientes (%)				Total (%)
	Agua	Té negro	Scoby	Pulpa de pepino	
0	84,5	0,5	5	10	100
5	79,5	0,5	5	10	100
10	74,5	0,5	5	10	100
15	69,5	0,5	5	10	100

Realizado por: (Montero, Luis, 2022)

En la tabla 4-3, se observa las cantidades a utilizar en la formulación para una bebida probiótica a base de chirimoya, pepino dulce y kombucha.

**Tabla 4-3:** Dosificación de la bebida probiótica con diferentes niveles de pulpa de chirimoya

Pulpa de chirimoya	Ingredientes				Total (%)
	Agua (ml)	Té negro (g)	Scoby (g)	Pulpa de pepino (g)	
0	845	5	50	100	
50	795	5	50	100	
100	745	5	50	100	
150	695	5	50	100	

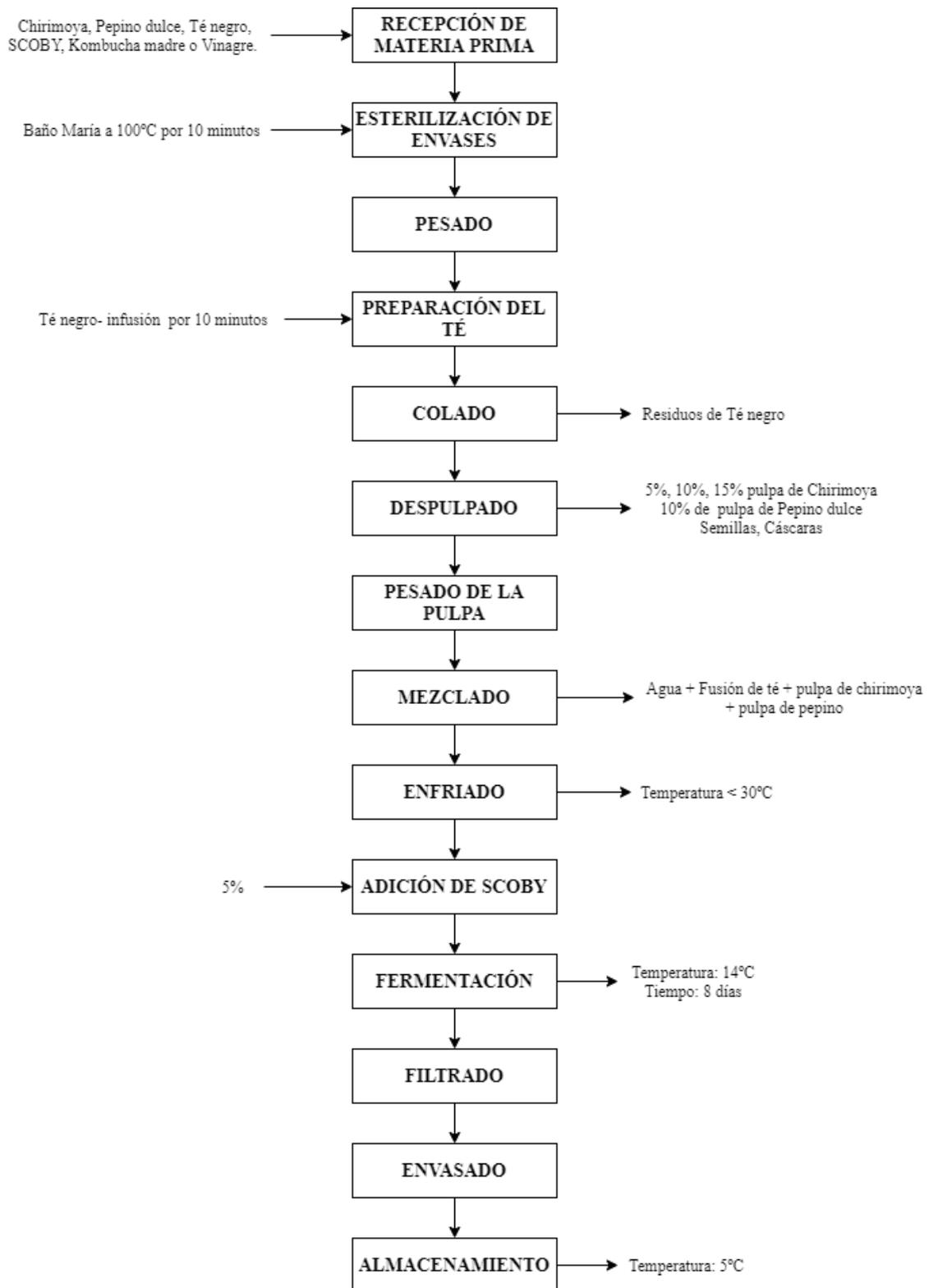
Realizado por: (Montero, Luis, 2022)

El procedimiento se modificó tomando como referencia a los autores (Llavisaca, 2021, p.35; Rubio, 2007, pp.32-37).

- **Recepción de la materia prima:** Se procedió a recibir los ingredientes y se verificó que sean de buena calidad, hay que cerciorarse que todo esté en buen estado y no caducado: chirimoya, pepino dulce, scoby, té negro, agua, vinagre o kombucha madre.
- **Esterilización de los envases:** Se procedió a esterilizar los envases de vidrio en “baño de maría” a 100°C por un lapso de 10 minutos desde que empieza a ebulir. Cumplido el tiempo se retiró del calor y se colocó sobre una base limpia.

- **Pesado:** Con la ayuda de una balanza digital se pesó todos los ingredientes de acuerdo con la fórmula establecida.
- **Preparación del té:** Se colocó la cantidad de agua establecida en una olla a ebullición, de ahí se apaga y se añade el té negro y se deja reposar por un lapso de 10 minutos, en este tiempo se elimina la mayor cantidad de taninos, no hay que sobrepasar este tiempo debido a que, puede generar un sabor amargo.
- **Colado:** Se empleó un cedazo y se procedió a quitar todos los residuos del té negro. En el caso de utilizar sobres de té, este paso no es necesario. De ahí se colocó la infusión en el fermentador de vidrio apto para alimentos.
- **Obtención de pulpa de frutas:** Se retiró la cáscara y las semillas tanto de la chirimoya y del pepino dulce, de ahí se realizó trozos de las frutas y se lo llevó a la licuadora para reducir el tamaño de la fruta y quede completamente homogénea, a continuación, se tamizó para eliminar restos de semillas y se lo colocó en recipientes separados.
- **Pesado de la pulpa:** Con la ayuda de un recipiente y de una balanza digital se procedió a pesar la cantidad de pulpa a utilizar de acuerdo con los tratamientos establecidos.
- **Mezclado:** En el fermentador se adicionó el resto de agua y a la vez la pulpa de chirimoya y de pepino dulce y se lo mezcló con algún material de madera hasta que quede completamente homogéneo.
- **Enfriado:** Se esperó hasta que la temperatura sea menor a 30°C para que no genere daños a la simbiosis de microorganismos.
- **Adición de scoby:** Se añadió la simbiosis de microorganismos conocido como “scoby” en un 5% para cada uno de los tratamientos.
- **Fermentación:** En el fermentador se cubrió con un lienzo o tela ligero para que exista la circulación con el aire (oxígeno) del entorno y evitar el ingreso de agentes extraños y a la vez se lo sujetó con una liga. El tiempo de fermentación fue de 8 días a una temperatura ambiente promedio de 14°C (Riobamba), el lugar donde colocó la bebida tenía una correcta circulación de aire, no le entró luz directa.
- **Filtrado:** Transcurrido el tiempo de fermentación, se retiró el Scoby viejo y nuevo y se filtró con un cedazo para obtener un líquido brillante y limpio sin la presencia de residuos o sedimentos propios de la fermentación.
- **Envasado:** Una vez terminado todo el proceso y esté completamente limpio se colocó en envases de plástico y se los cierra completamente.
- **Almacenamiento:** Se almacenó la bebida probiótica en refrigeración una vez haya sido envasado a una temperatura de 5°C.

En la Ilustración 1-3 se observa el procedimiento para la elaboración de la bebida probiótica.



**Ilustración 1-3:** Diagrama de flujo del proceso de elaboración de una bebida probiótica con diferentes niveles de pulpa de chirimoya

Realizado por: (Montero, Luis, 2022)

### **3.8 Metodología de evaluación**

#### **3.8.1 Análisis Fisicoquímico**

Para la valuación de los parámetros fisicoquímicos se tomó como referencia 2 normas la (NTE INEN 1101, 2017, p.2) bebidas gaseosas, requisitos y la norma (DUS 2037, 2018, p.3) kombucha-especificaciones.

##### *3.8.1.1 Determinación de pH*

Se aplicó la norma (NTE INEN 1087, 1984, p.1) para la determinación del pH, (concentración de ion de hidrógeno) en bebidas gaseosas, dado que, no existe una normativa vigente para la kombucha en el Ecuador.

El procedimiento debe realizarse por duplicado sobre la misma prueba elaborada.

Se mezcla la bebida de forma homogénea, de ahí se revisa que el potenciómetro este calibrado y en óptimas condiciones, seguido, con la ayuda de una pipeta se agrega de 15 a 30 ml de muestra en un vaso de precipitación de 50 ml, se lo mezcla con la ayuda de un agitador y se ajusta la temperatura de  $20^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , a continuación, se agrega el electrodo en la muestra hasta que lo cubra por completo evitando que toque las paredes, finalmente, se anota el valor del pH, y se saca el electrodo y se lo lava de forma cuidadosa con agua destilada.

##### *3.8.1.2 Determinación de sólidos solubles*

Para determinar el contenido de sólidos solubles en la bebida probiótica, se tomó como referencia la metodología aplicada por (Vargas, 2011, pp.1-93).

El procedimiento debe realizarse por duplicado sobre la misma prueba elaborada.

El refractómetro se lo debe colocar en una posición donde se difunda la luz natural o cualquier otra luz artificial, que pueda ser utilizado para la iluminación, de ahí, se hace circular agua a  $20^{\circ}\text{C}$  a través del prisma, se debe limpiar de forma cuidadosa el refractómetro antes de la medición, a continuación, se coloca unas gotas de la bebida sobre el prisma del refractómetro y se toma la lectura en  $^{\circ}\text{Brix}$  para todos los tratamientos.

### 3.8.1.3 Determinación de la acidez titulable

Para determinar la acidez total en la bebida “probiótica” se aplicó la norma (NTE INEN 1091, 1984, pp.1-3). Acidez titulable en bebidas gaseosas.

El procedimiento debe realizarse por duplicado sobre la misma prueba elaborada.

Primero se debe estandarizar el potenciómetro a un valor de 7 con la ayuda de una solución buffer, de ahí, se debe proceder a lavar el electrodo para eliminar la solución buffer, a continuación, con la ayuda de una pipeta se agrega de 15 a 30 ml del té fermentado (kombucha) sobre un vaso de precipitación, después, se procede a introducir los electrodos de vidrio y el agitador magnético dentro de la bebida, es importante ajustar la temperatura a 20°C y agitarlo para su correcta homogenización, en seguida se debe empezar a titular la kombucha con la solución de NaOH 0,1N, controlando la variación del pH en el potenciómetro, hasta llegar a un punto final de la titulación (neutralización).

### CÁLCULOS

$$A = \frac{V1 * N1}{V}$$

A= Acidez titulable en miliequivalentes por centímetro cúbico (meq/cm<sup>3</sup>).

V1= Normalidad de la base utilizada en la titulación.

N1= Volumen de la solución 0,1 N de hidróxido de sodio utilizada en la titulación, en cm<sup>3</sup>.

V= Volumen de la muestra utilizada en el ensayo, en cm<sup>3</sup>.

Se debe aplicar el factor de corrección de miliequivalentes a gramo de ácido.

Ácido	Gramos por miliequivalentes
Acético	0,060

### 3.8.1.4 Determinación del % alcohol

Para determinar el % de alcohol de la bebida probiótica, se aplicó el procedimiento establecido en la normativa (KS EAS 104, 2014, pp.6-8). Bebidas alcohólicas. Método de muestreo y análisis.

## Método del picnómetro

Primero se debe asegurar que el picnómetro este calibrado, de ahí se procede a colocar este material vacío en una balanza analítica para medir su masa, como mínimo 2 cifras significativas, a continuación, se agrega agua destilada en el picnómetro, la cantidad va a depender de la capacidad del instrumento y se procede a medir la masa del objeto, cuando ya se haya retirado toda el agua, se procede agregar la muestra a analizar (kombucha), esta debe ser homogenizada y calentada hasta 20°C y de la misma forma, se mide su masa en la balanza analítica, cuando se haya terminado la medición, se procede a retirar la muestra del picnómetro y se lo lava con agua destilada. A continuación, se muestra la fórmula para obtener la densidad de la bebida, este dato nos sirve para calcular el % alcohol que presenta la bebida (kombucha).

## CÁLCULOS

$$dB = \frac{mB}{mA} dA$$

dB: Densidad de la solución problema (kombucha)

dA: Densidad de la solución conocida (agua destilada)

mB: Masa picnómetro con solución problema (kombucha)

mA: Masa picnómetro con solución conocida (agua destilada)

## CÁLCULOS

$$\% \text{alcohol} = DI - DF * 0.13125$$

DI= Densidad inicial de la kombucha (kg/cm<sup>3</sup>)

DF= Densidad final de la kombucha (kg/cm<sup>3</sup>)

### 3.8.2 *Análisis Microbiológico*

#### 3.8.2.1 *Siembra*

- Primero se debe colocar las cajas petri, tubos de ensayo, puntas para micropipetas, vasos de precipitación cubiertos con papel aluminio, agua destilada en frascos termo-resistente, etc. Estos materiales se colocan en la autoclave y se esterilizan, cuando la temperatura haya llegado a 120°C, se espera por 15 minutos y se apaga dejando salir la presión de aire.

- De acuerdo con el número de cajas petri que se vayan a sembrar, se realiza la preparación del agar, para kombucha se utilizó el agar MacConkey (Coliformes totales y *Escherichia coli*), para mohos y levaduras (PDA) y para bacterias probióticas (MRS Lactobacilli).
- Primero se realiza el cálculo para conocer la cantidad de agua y agar a utilizar, a continuación, se mide la masa del agar y se lo añade en un frasco termoresistente con el agua destilada previamente añadida, de ahí, se calienta hasta ebullición, se lo mezcla y se apaga. Este proceso depende del agar si se lo autoclava o no.
- En la cámara de flujo laminar se colocan primero los tubos de ensayo, el agua destilada, vasos de precipitación que han sido esterilizados previamente y se enciende el UV, por un corto periodo de tiempo.
- Las muestras se las mezcla de forma homogénea y se colocan 20 a 30 ml en los vasos de precipitación y se los cubre con papel de aluminio.
- Con la ayuda de una probeta de 50 ml se procede a medir 9 ml de agua destilada y se coloca en cada tubo de ensayo, a continuación, con la ayuda de una micropipeta y de las puntas se coloca 1 ml de muestra en los tubos de ensayo con 9 ml de agua destilada así se realiza de forma sucesiva, de acuerdo con las correspondientes diluciones.
- En el caso de coliformes y *E. coli* ( $10^{-1}$ ), para mohos y levaduras ( $10^{-6}$ ), bacterias probióticas ( $10^{-3}$  y  $10^{-6}$ ) y sin dilución.
- En las cajas de petri, se coloca 10 ml de agar y se realiza movimientos para que quede completamente mezclado y se espera hasta que se solidifique, de ahí con la micropipeta y con las puntas se procede a tomar 1 ml de muestra y coloca en el agar (siembra por extensión de placa) y se realiza 8 giros a la izquierda y 8 a la derecha, esto para bacterias coliformes, *E. coli* y mohos y levaduras.
- Para la siembra de bacterias probióticas se coloca 1 ml de la dilución en la caja de petri y a continuación se agrega el agar (siembra por profundidad), de ahí se procede a realizar 8 giros a la izquierda y 8 a la derecha para que la siembra sea lo más homogéneo posible, de esta forma se garantiza anaerobiosis, un requisito para el crecimiento de este tipo de bacterias.

### 3.8.2.2 Incubación y conteo

#### Incubación

- Se deben colocar las cajas de petri en la incubadora a 37 °C, para *E. coli* y coliformes por 24 horas, para bacterias probiótica, se coloca las cajas en un desecador con una vela para generar anaerobiosis, a una temperatura de 37°C por 3 días, en cambio, para mohos y levaduras se colocan en una incubadora, a una temperatura de 25°C por 5 días.

## Conteo

- Se coloca la caja de petri la base boca arriba sobre él cuenta colonias y se procede a realizar trazos, cuadrados siguiendo la guía de la cuenta colonias y se escoge 3 cuadrantes, el primero en el que se observe la mayor cantidad de colonias (carga alta), seguido por el que tenga la mitad de las colonias (carga media) y finalmente se elige el que presente la menor cantidad de colonias (carga baja). De ahí se aplica la fórmula que está a continuación.

## CÁLCULO

$$N^{\circ} \text{ Colonias} = \frac{CA + CM + CB}{3} * 65$$

CA: Carga alta

CM: Carga media

CB: Carga baja

$$\frac{UFC}{ml} = \frac{N^{\circ} \text{ Colonias} * \text{Factor de Dilución}}{ml \text{ de muestra utilizada}}$$

### 3.8.2.3 Recuento de coliformes totales (UFC/ml)

Estos microorganismos se caracterizan por ser bacterias entéricas, anaerobia o aerobias facultativas, gram negativas y no esporógenas, que fermentan la lactosa y así producen ácido y CO<sub>2</sub>, estas bacterias se encuentran en el agua, suelo, vegetales y en gran medida en el intestino de los humanos y animales (coliformes fecales), entre los más comunes se encuentra *E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Citrobacter* (Sotil, 2017, pp.15-16). Para realizar el conteo de coliformes totales se aplicó la norma (NTE INEN 1529-7, 1990, pp.1-4). “Determinación de microorganismos coliformes”.

### 3.8.2.4 Recuento de *Escherichia coli* (UFC/ml)

Para realizar el conteo de *E. coli* en la bebida probiótica se tomó en cuenta la metodología que se menciona en la norma (NTE INEN 1529-8, 2016, pp.7-8) “Control microbiológico de los alimentos. Detección y recuento de *Escherichia coli* presuntiva por la técnica del número más probable”.

### 3.8.2.5 Recuento de mohos y levaduras (UFC/ml)

Para realizar el conteo de mohos y levaduras en la bebida probiótica se utilizó la metodología referenciada en la norma (NTE INEN 1529-10, 2013, pp.1-4) “Control microbiológico de los alimentos mohos y levaduras viables recuento en placa por siembra en profundidad”.

### 3.8.2.6 Conteo de bacterias probióticas (UFC/ml)

Se tomó como referencia la normativa (NTE INEN 2395, 2011, pp.3-4) “Leches fermentadas. Requisitos” en lo cual se menciona que para ser considerada una bebida probiótica debe existir como mínimo  $10^6$  UFC/ml.

### 3.8.3 Análisis Organoléptico

Para el análisis organoléptico se tomó en cuenta 4 atributos sensoriales (color, sabor, olor y apariencia), de los cuales se midió la aceptabilidad de las personas sobre la bebida probiótica. En el trabajo de investigación se utilizaron panelistas no estrenados, se aplicó una prueba afectiva escalar hedónica de 5 puntos (Jhonson, 2021, p.1), como se observa en el anexo A.

### 3.8.4 Análisis económico

#### 3.8.4.2 Costo de producción

Para calcular el costo de producción se suma el total de todos los costos y gastos generados en la elaboración de la bebida probiótica a base de chirimoya, pepino dulce y kombucha y estos a su vez se dividen para la cantidad total obtenida en cada tratamiento.

#### 3.8.4.3 Beneficio/Costo (B/C)

El beneficio costo se obtiene al dividir los ingresos totales con los egresos realizados. Como se observa en la siguiente ecuación:

$$\text{Beneficio /Costo} = \frac{\text{Ingresos}}{\text{Egresos}}$$

## CAPITULO IV

### 4 MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

#### 4.1 Análisis bromatológico

En la investigación se evaluó los diferentes niveles de pulpa de chirimoya como sustrato para el crecimiento de bacterias probióticas, los resultados obtenidos hacen referencia al pH, acidez, sólidos solubles y % alcohol, mismos que se reportan en la tabla 1-4, cabe recalcar que, estos análisis se lo realizaron al inicio de la fermentación y al final (8 días), en una temperatura promedio de 14°C.

**Tabla 1-4:** Composición fisicoquímica de la bebida probiótica elaborada con diferentes niveles de pulpa de chirimoya

TIEMPO	VARIABLES	NIVELES DE PULPA DE				E.E	PROB.	C.V
		CHIRIMOYA (%)						
		0	5	10	15			
Inicial	pH	4,53 c	4,80 b	4,90 ab	5,00 a	0,04	<0,0001	1,56
	Acidez (g/100ml)	0,11 a	0,12 a	0,09 b	0,11 a	0,003	<0,0001	4,99
	Sólidos solubles (°Brix)	3,00 c	3,19 c	4,00 b	4,88 a	0,17	0,0019	2,54
8 Días	pH	4,05 a	4,00 a	4,03 a	4,00 a	0,03	0,5519	1,39
	Acidez (g/100ml)	0,21 c	0,29 b	0,30 b	0,37 a	0,01	<0,0001	7,65
	Sólidos Solubles (°Brix) 1*	1,13 b	1,41 ab	1,41 ab	1,62 a	0,17	0,0019	9,72
	Alcohol (%) 1*	0,49 b	0,65 b	1,15 a	1,02 a	0,09	<0,0001	12,13

1\*: Valores ajustados por medio de raíz cuadrada ( $\sqrt{\quad}$ )

C.V.: Coeficiente de variación

E.E.: Error estándar

PROB. > 0,05: No hay diferencias significativas

PROB. < 0,05: Hay diferencias significativas

PROB. < 0,01: Hay diferencias altamente significativas

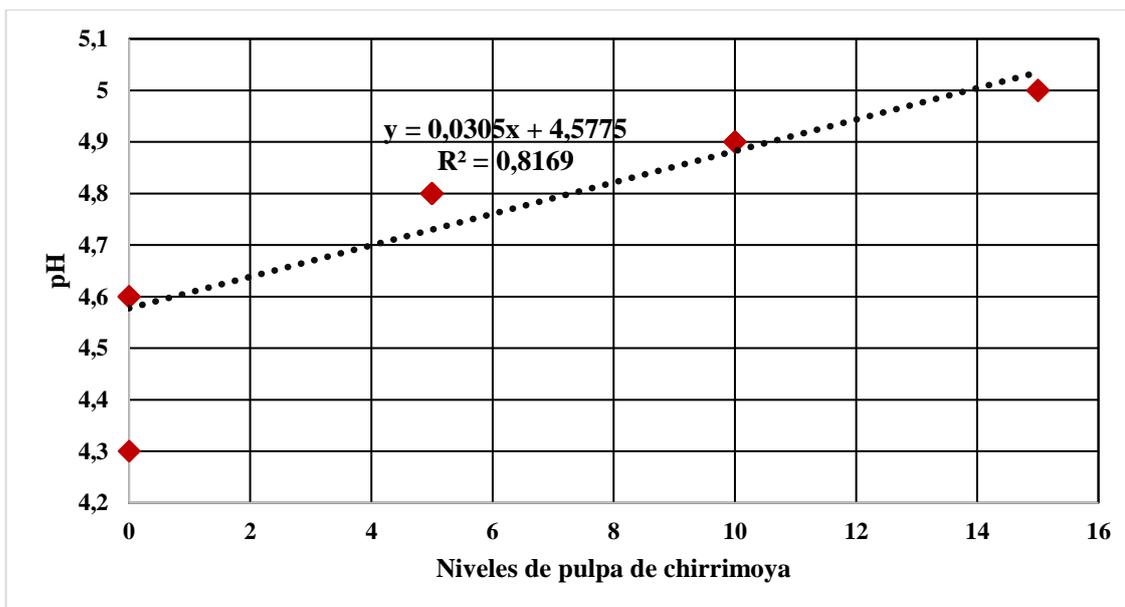
Medias con una letra común no son significativamente diferentes, de acuerdo con la prueba de Tukey (p > 0,05)

**Realizado por:** (Montero, Luis, 2022)

#### 4.1.1. pH

El pH de la bebida probiótica al inicio de la fermentación presentó diferencias altamente significativas, por efecto de los niveles de pulpa de chirimoya, al utilizar el 15% de pulpa de chirimoya, se obtuvo un pH de 5, en cambio, al emplear el tratamiento control, se logra alcanzar un pH 4,53 (ver tabla 1-4). Al aplicar el análisis de la regresión, se estableció una tendencia lineal, lo que indica que, al incrementar los niveles de pulpa de chirimoya, el pH tiende a aumentar, es por ello que, por cada unidad adicional de pulpa de chirimoya, el pH aumenta en 0,030 unidades (ver ilustración 1-4). Este efecto se genera por el propio pH de los frutos, donde (Ramos, et al., 2017: p.1) expone que la chirimoya tiene un pH, de 5,91 a 6,61, en cambio (Díaz et al., 2021: p.586) menciona que, el pepino dulce presenta un pH de 5,1. Al comparar los resultados obtenidos con (Vargas, 2011, p.51), quien obtuvo a las 22 horas un pH de 4,94 con 100g/L sacarosa + 2g/L té negro y 4,01 con 100g/L sacarosa + 6g/L té negro, resultados muy similares a los reportados en la presente investigación, a diferencia de lo reportado por (Yikmis & Tuggum, 2019: p.1324), quien utilizó albahaca morada, reemplazando al té negro, obteniendo un valor de pH de  $3,01 \pm 0,06$ , en el primer día de fermentación. Las diferencias se deben principalmente a las mezclas de infusiones y sustratos utilizados en cada investigación (Cujilema, 2021, p.20), el pH de la bebida probiótica, se encuentran fuera del rango máximo permitido, de acuerdo con la norma (NTE INEN 1101, 2017, p.2), esto se debe a que la normativa, se basa en bebidas carbonatadas, tomado como referencia, al no existir una normativa vigente en el país donde se establezca este parámetro para la kombucha.

El pH de la bebida probiótica a los 8 días de fermentación, no presentó diferencias estadísticas, por el efecto de los niveles de pulpa de chirimoya, como se observa en la tabla 1-4, esto se genera por las bacterias ácido lácticas, mismas que pueden desarrollarse de forma natural en valores de pH de 4 y 4,5, presentando una alta sensibilidad a pH bajos, lo cual genera que inicie su declive (Parada et al., 2020: pp.1-5), convirtiéndose en la principal razón, por la cual el pH no disminuye a valores menores de 4, en otras investigaciones presentan un pH menor a 4, lo que genera ausencia de estos microorganismos. Los resultados se asemejan a lo obtenido por (Dragoljub, et al., 2006; citados en Robles, 2011, p.24) en su investigación “Producción de una bebida de kombucha de hisopillo (*L. satureja montana*) por inoculación de té por pellicle” donde midió la variación del pH con el tiempo, llegando a un valor de 3,92 al octavo día, valor similar al reportado en nuestra investigación, a diferencia de lo expuesto por (Vargas, 2011, pp.1-93), teniendo como mejor resultado el tratamiento a1b1 con un pH de 3,03 al utilizar 100g/L de sacarosa + 2g/L de té en un tiempo de fermentación de 280,25 horas, la variación en los resultados depende del tiempo, mientras mayor tiempo de fermentación menor pH (Pereyra et al., 2006: p.4). El pH de la bebida está dentro del rango permitido, de acuerdo con la (NTE INEN 1101, 2017, p.2).



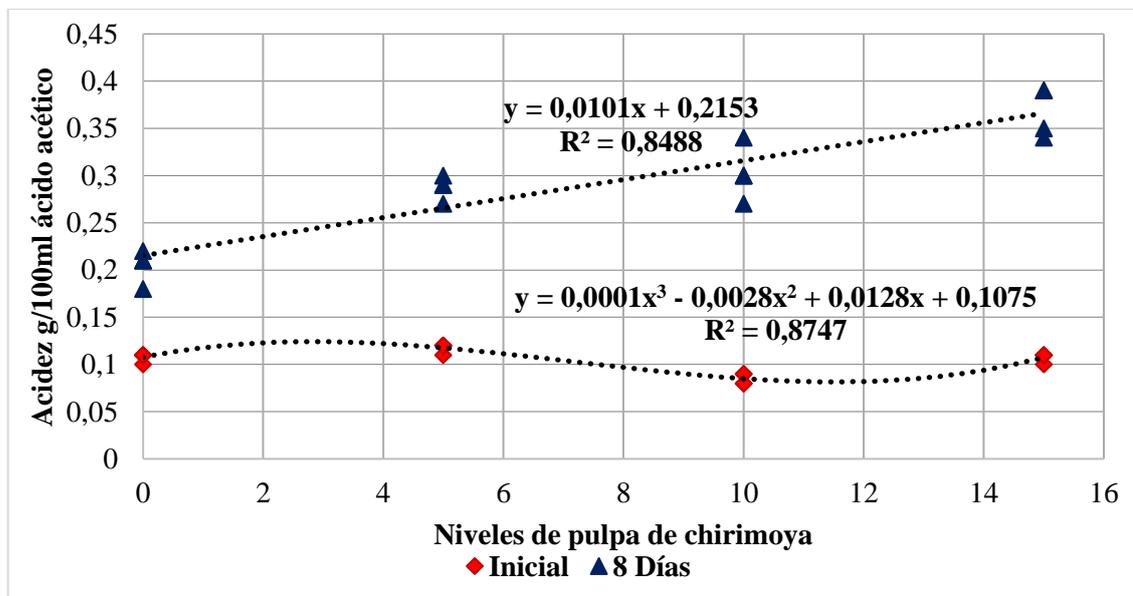
**Ilustración 1-4:** pH de la bebida probiótica elaborada con diferentes niveles de pulpa de chirimoya

Realizado por: (Montero, Luis, 2022)

#### 4.1.2 Acidez (g/100ml ácido acético)

La acidez de la bebida probiótica al inicio de la fermentación presenta diferencias altamente significativas, por efecto de los diferentes niveles de pulpa de chirimoya, registrándose el mayor contenido al emplear el 0, 5 y 15% de pulpa de chirimoya con valores de 0,11, 0,12 y 0,11g/100ml respectivamente, a diferencia de usar el 10% de pulpa de chirimoya, lo cual redujo la acidez a 0,09g/100ml, como se observa en la tabla 1-4. Al aplicar el análisis de la regresión, se estableció una tendencia cúbica, donde la acidez aumenta, hasta el empleo del 5% de pulpa de chirimoya, de ahí, disminuye y nuevamente aumenta (ver ilustración 2-4). Este efecto se genera, por las características morfológicas del fruto dentro del mismo árbol, destacando la longitud, diámetro, peso del fruto maduro, longitud del pedúnculo, diámetro del pedúnculo etc., en la que ocasiona variaciones en la acidez, desde 0,13 a 0,72g/100ml ácido cítrico por efecto de la dicogamia floral (Yaguana, 2018, pp.37-41). Al comparar los resultados obtenidos con lo reportado por (Robles, 2011, pp.57-58) en su investigación basada en la determinación de parámetros de fermentación para la producción de kombucha, obtuvo al inicio de la fermentación un valor <0,05g/100ml de ácido acético, menor a lo obtenido en la investigación, esta variación se debe a la cantidad de sustrato, té negro y la temperatura de fermentación, utilizada en cada investigación (Morales, 2014, pp.110-115). Además, la acidez obtenida se encuentra dentro del rango máximo permitido de acuerdo con la norma (NTE INEN 1101, 2017, p.2).

La acidez de la bebida a los 8 días de fermentación presentó diferencias altamente significativas, por efecto de los diferentes niveles de pulpa de chirimoya, encontrándose que, al utilizar el 15% de pulpa de chirimoya, la acidez aumenta a 0,37g/100ml, en cambio, al utilizar el tratamiento control, la acidez se reduce a 0,21g/100ml, (ver tabla 1-4). De acuerdo con el análisis de la regresión, se estableció una tendencia lineal, lo que nos demuestra que, por cada unidad adicional de pulpa de chirimoya, la acidez aumenta en 0,010 unidades, como se observa en la ilustración 2-4. Esto se produce por la cantidad de sustrato utilizado en la fermentación, de acuerdo con (Morales, 2014, p.110), mientras mayor sustrato, mayor producción de de ácidos orgánicos (acético, glucurónico, glucónico, láctico, etc.). Las levaduras utilizan la glucosa para elaborar etanol y CO<sub>2</sub>, mismo que será oxidado de etanol a ácido acético por las bacterias ácido-acéticas, *Acetobacter* spp, *Gluconacetobacter* spp, *Komagataeibacter* spp, así mismo, se encargan de transformar de forma directa la glucosa en ácido glucurónico y la fructosa en ácido acético, lo que genera el aumento en la acidez de la bebida (Gomes et al., 2018: pp.139-151). Los resultados obtenidos, se asemejan con lo reportado por (Carvajal, 2019, p.57; Dragoljub et al., 2006; citados en Robles, 2011, p.24 ) quienes obtuvieron una acidez de 0,402g/100ml y 0,216 a 0,243g/100ml entre 8 a 9 días respectivamente, a diferencia de (Robles, 2011, pp.57-58) quien obtuvo una acidez de 0,76g/100ml a las 72 horas de fermentación con 8g té negro a 28°C, la variación de la acidez depende la cantidad de sustrato, tiempo de fermentación, contenido de té, tiempo de oxigenación e incluso la cantidad de inóculo (Morales, 2014, pp. 110-115). De la misma forma, la acidez reportada en la investigación se encuentra dentro del rango máximo permitido de acuerdo con la (NTE INEN 1101, 2017, p.2).



**Ilustración 2-4:** Acidez de la bebida probiótica elaborada con diferentes niveles de pulpa de chirimoya

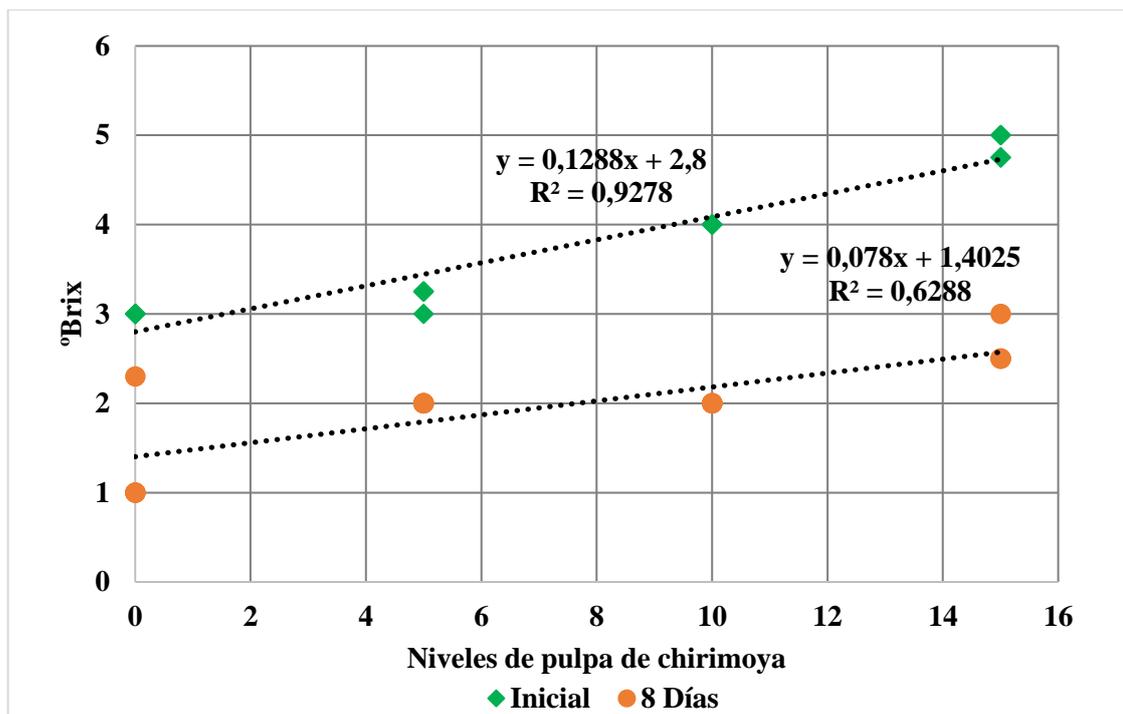
Realizado por: (Montero, Luis, 2022))

Al observar la ilustración 2-4, se aprecia que a medida que transcurre el tiempo, la acidez de la bebida es mayor con respecto a la acidez inicial.

#### **4.1.3 Sólidos Solubles (°Brix)**

Los Sólidos solubles de la bebida probiótica al inicio y a los 8 días de fermentación presentan diferencias altamente significativas por efecto de los diferentes niveles de pulpa de chirimoya, por cuanto se estableció que, al utilizar el 15% de pulpa de chirimoya, presenta el mayor contenido al inicio y al final de la fermentación con 4,88 y 1,62 °Brix valor ajustado, a diferencia de usar el 0 y 5% de pulpa de chirimoya, debido a que generan el contenido más bajo con 3,00 y 3,19 °Brix al inicio y 1,13 y 1,41 °Brix valor ajustado al final de la fermentación, como se observa en la tabla 1-4. De acuerdo con el análisis de la regresión, se estableció una tendencia lineal, donde, por cada unidad adicional de pulpa de chirimoya, los sólidos solubles aumentan en 0,128 unidades al inicio y 0,078 unidades los 8 días de fermentación (ver ilustración 3-4). Este efecto se genera por el tipo de fruta utilizado al inicio del proceso fermentativo, la chirimoya, es una fruta rica en azúcares y ácidos orgánicos, donde tiene un valor entre 17 y 23 °Brix (Duchi, 2017, p.136), en cambio, el pepino dulce, solamente presenta una cantidad de 5,35 – 6,36 °Brix (Botrel & De Castro, 2018: p.6). Estos resultados difieren a lo portado por (Vargas, 2011, pp.1-93), donde obtuvo un valor de 11,7 °Brix en su mejor tratamiento a las 280,25 horas de fermentación, en el cual utilizó 100g de sacarosa, mas 2g de té por cada litro de agua, la variación es resultado de la cantidad de sustrato que se utilizó al inicio y el tiempo de fermentación, esto se corrobora con (Muzaiifa et al., 2022: pp.127-128) quienes en su investigación se basaron en la fermentación de kombucha con cáscara de café y con pitahaya roja, quienes obtuvieron un contenido de sólidos solubles a los 2 días de fermentación de 10,97 °Brix y a los 8 días 9,97 °Brix, llegando a la conclusión que, el consumo del sólidos solubles varía, de acuerdo al tiempo de fermentación y a la cantidad de sustrato que se le incluya al inicio del proceso fermentativo. Además, de acuerdo con la norma (NTE INEN 1101, 2017, p.2) la bebida se encuentra dentro del rango máximo permitido para sólidos solubles.

Al observar la ilustración 3-4, se concluye que, a medida que transcurre el tiempo, los sólidos solubles disminuyen, esto se corrobora con (Morales, 2014, pp.87-93).



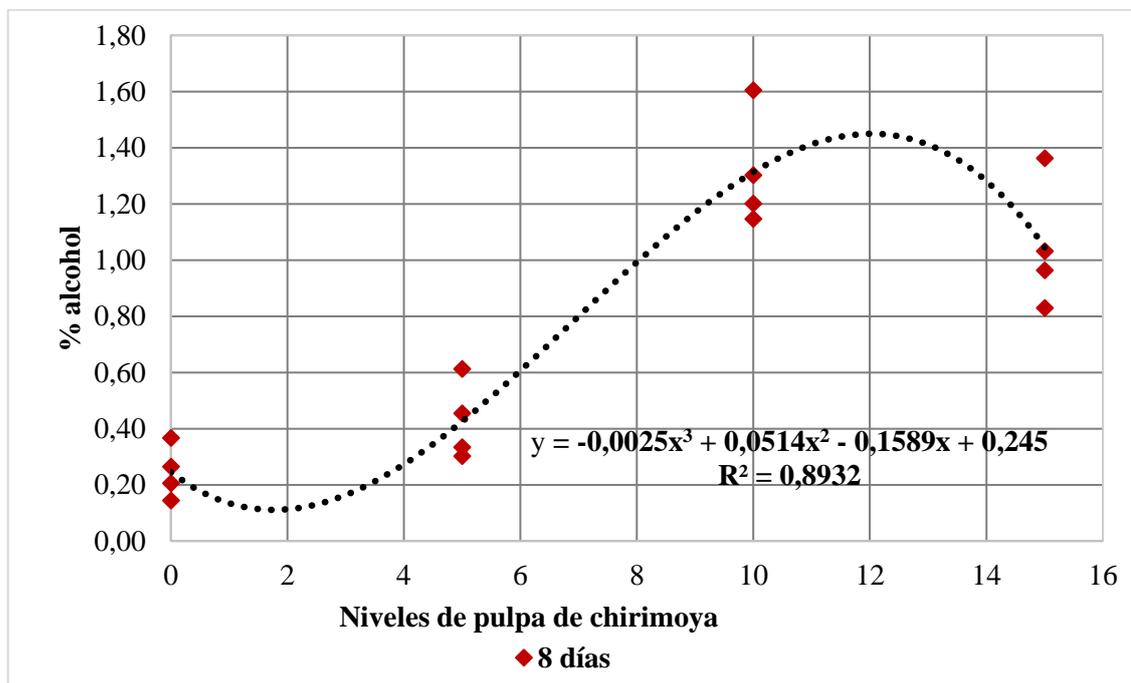
**Ilustración 3-4:** Sólidos solubles de la bebida probiótica elaborada con diferentes niveles de pulpa de chirimoya

Realizado por: (Montero, Luis, 2022)

#### 4.1.4 % Alcohol

El % de alcohol de la bebida probiótica a los 8 días de fermentación, presentan diferencias altamente significativas, por efecto de los diferentes niveles de pulpa de chirimoya, observándose que, al utilizar el 10 y 15% de pulpa de chirimoya, se registran los valores más altos en alcohol con 1,15 y 1,02% valores ajustados, sin embargo, cuando se emplea el 0 y 5% de pulpa de chirimoya, el contenido alcohólico disminuye en 0,49 y 0,65% valores ajustados (ver tabla 1-4), al aplicar el análisis de la regresión, se obtuvo una tendencia cúbica, donde, al emplear el 0% pulpa de chirimoya el porcentaje de alcohol disminuye, de ahí aumenta con el 5 y 10% y con niveles superiores tiende a disminuir (ver ilustración 4-4). Esto es resultado de la cantidad de levaduras y sustrato presentes en cada tratamiento, lo que provoca una mayor o menor cantidad de etanol y CO<sub>2</sub> (Neffe et al., 2017: pp.601-607), después de un proceso oxidativo, se transforma en ácido acético, dependiendo de la cantidad de etanol, será mayor o menor su producción (Lindahl et al., 2017: pp.42-55), esto se corrobora, porque al utilizar el 15% de pulpa de chirimoya, la acidez aumenta en 0,37g/100ml ácido acético, pero el alcohol disminuye (ver ilustración 2-4 y 4-4). La cantidad de etanol obtenido se encuentra cercano a lo reportado por (Villarreal-Soto et al., 2019: pp.44-54; Cardoso et al., 2019: p.4; Ivanisová et al., 2020: pp.1840-1846) quienes obtuvieron valores de 1,4% con 11g/L de sacarosa en 21 días de fermentación, 0,49% al utilizar 12g/L té negro, en 4 minutos de

infusión + 50g/L azúcar + 3% (p/v) SCOBY y 100ml/L de una kombucha previa en 10 días de fermentación a 25°C y 0,4% con 30g/L azúcar + 5g/L té negro en 5 minutos de infusión, en 7 días de fermentación a 22°C, además, en una investigación realizada por (Mcintyre & Jang, 2020: pp.4-14) en Columbia Británica, donde analizaron 684 muestras de kombucha obtenidas de restaurantes, empresas fabricadoras, gimnasios, centros recreativos, mercados de agricultores, etc., dando como resultado que el 68,5% de muestras obtuvieron  $\leq 1\%$  de ABV (alcohol by volume), el 25,3% obtuvieron entre 1 y 2% ABV y el 6,2  $> 2\%$  ABV, lo cual nos indica que, el contenido de etanol, depende de varios factores, destacando la temperatura, el tiempo de fermentación, dado que, mientras mayor tiempo de fermentación, el contenido de etanol empieza a disminuir, por un proceso oxidativo en el que intervienen bacterias acéticas produciendo compuestos orgánicos (Villarreal-Soto et al., 2019: pp.44-54). El contenido de azúcares fermentables influye de forma directa, ya que, una baja cantidad de sacarosa disminuye el contenido alcohólico y viceversa (Neffe et al., 2017: pp.601-607). De acuerdo con la norma (DUS 2037, 2018, p.3) el contenido de alcohol obtenido con el 0 y 5% de pulpa de chirimoya se encuentra dentro del rango permitido para considerarse una bebida no alcohólica  $<0,50$ , sin embargo, el empleo del 10 y 15% de pulpa de chirimoya, se obtiene una bebida alcohólica  $>0,50$ .



**Ilustración 4-4:** Porcentaje de alcohol de la bebida probiótica elaborada con diferentes niveles de pulpa de chirimoya

Realizado por: (Montero, Luis, 2022)

## 4.2 Análisis microbiológico

Los análisis microbiológicos se realizaron a los 8 días de fermentación, en el laboratorio de biotecnología y microbiología animal (LABIMA), En la tabla 2-4, se evidencia cada uno de los tratamientos y las unidades formadoras de colonia (UFC) por cada mililitro de muestra utilizada, de acuerdo con cada microorganismo, acompañado de su error estándar y de su probabilidad, es así como, se puede observar cuales son los mejores tratamientos y a la vez determinar su significancia.

**Tabla 2-4:** Análisis microbiológico de la bebida probiótica elaborada con diferentes niveles de pulpa de chirimoya

Variable	% pulpa de chirimoya				E.E	PROB.
	0	5	10	15		
<i>E. coli</i> UFC/ml	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia	-	-
Coliformes totales UFC/ml	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia	-	-
Bacterias probióticas UFC/ml	2x10 <sup>3</sup> b	5,8x10 <sup>4</sup> b	8,4x10 <sup>4</sup> b	5,3x10 <sup>7</sup> a	8,8x10 <sup>6</sup>	0,002
Mohos UFC/ml	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia	-	-
Levaduras UFC/ml	8,1x10 <sup>6</sup> b	5,5x10 <sup>7</sup> b	3,1x10 <sup>8</sup> ab	1,4x10 <sup>9</sup> a	2,8x10 <sup>8</sup>	0,0182

E.E.: Error estándar

PROB. > 0,05: No hay diferencias significativas

PROB. < 0,05: Hay diferencias significativas

PROB. <0,01: Hay diferencias altamente significativas

Medias con una letra común no son significativamente diferentes, de acuerdo con la prueba de Tukey (p > 0,05)

**Realizado por:** (Montero, Luis, 2022)

### 4.2.1 *Escherichia coli*

En los análisis microbiológicos, a los 8 días de fermentación, dio como resultado la ausencia de *Escherichia coli* en todos los tratamientos, esto nos demuestra que no existió contaminación de tipo fecal y es un producto apto para el consumo, porque se rige a lo que menciona la norma (NTE INEN 2395, 2011, pp.3-4). La ausencia de esta bacteria se debe a que el producto se desarrolló con las condiciones higiénicas adecuadas, además, la kombucha al estar formado por una colonia simbiótica de microorganismos, incluidos del género *Acetobacter* spp, *Gluconacetobacter* spp, *Komagataeibacter* spp, producen como resultado de la fermentación, ácido acético (vinagre), lo cual genera que, el medio se acidifique disminuyendo su pH (Gomes et al., 2018: pp.139-151) lo que

desarrolla las condiciones inadecuadas para el crecimiento y reproducción de este tipo de microorganismo, de acuerdo a la (OMS, 2018, p.1) la *Escherichia coli* no resiste a pH menores a 4,4 estando acorde a lo obtenido en la investigación.

#### **4.2.2 Coliformes totales**

Los resultados obtenidos al final de la fermentación de la bebida probiótica, se destaca que no hubo la presencia de coliformes totales en ningún tratamiento, debido a que, el producto se elaboró de acuerdo a los estándares de calidad, de la misma forma, por el mismo proceso de fermentación se obtienen como resultado compuestos orgánicos como es el ácido acético, glucónico, glucurónico, láctico, cítrico, aminas biogenas, aminoácidos, purinas, pigmentos, lípidos, proteínas, enzimas hidrolíticas que trabajan de forma sinérgica generando la actividad antimicrobiana (Martínez et al., 2018: pp.390-399). Es por ello que, el producto es apto para el consumo humano, y está dentro lo que permite la norma (NTE INEN 2395, 2011, pp.3-4),

#### **4.2.3 Bacterias probióticas**

La bebida probiótica a los 8 días de fermentación presentó diferencias altamente significativas, por el efecto de los diferentes niveles de pulpa de chirimoya, destacándose que, al utilizar el 15% de pulpa de chirimoya, se obtiene el crecimiento más alto en bacterias probióticas con  $5,3 \times 10^7$  UFC/ml, en cambio, al utilizar el 0, 5 y 10% genera el crecimiento más bajo en bacterias viables con  $2,0 \times 10^3$ ;  $5,8 \times 10^4$ ;  $8,4 \times 10^4$  UFC/ml, respectivamente, como se observa en la tabla 2-4. De acuerdo con el análisis de la regresión, se estableció una tendencia cuadrática, misma que, al utilizar el 0% de pulpa de chirimoya genera una disminución del crecimiento de bacterias probióticas, en cambio, mientras se aumenta los niveles de pulpa de chirimoya el crecimiento aumenta (ver ilustración 5-4). Esto es por efecto de la concentración de carbohidratos en cada tratamiento, de acuerdo a (Suharman et al., 2021: pp.3-4) el número de colonias bacterianas puede crecer hasta un número máximo en el medio, esto está influenciado por la disponibilidad de nutrientes, debido a que, influye de forma drástica en la población de bacterias probióticas, la fruta puede estimular el crecimiento de estas bacterias y aumentar su actividad, lo mismo que la sacarosa, mientras mayor cantidad y disponibilidad, mayor crecimiento bacteriano.

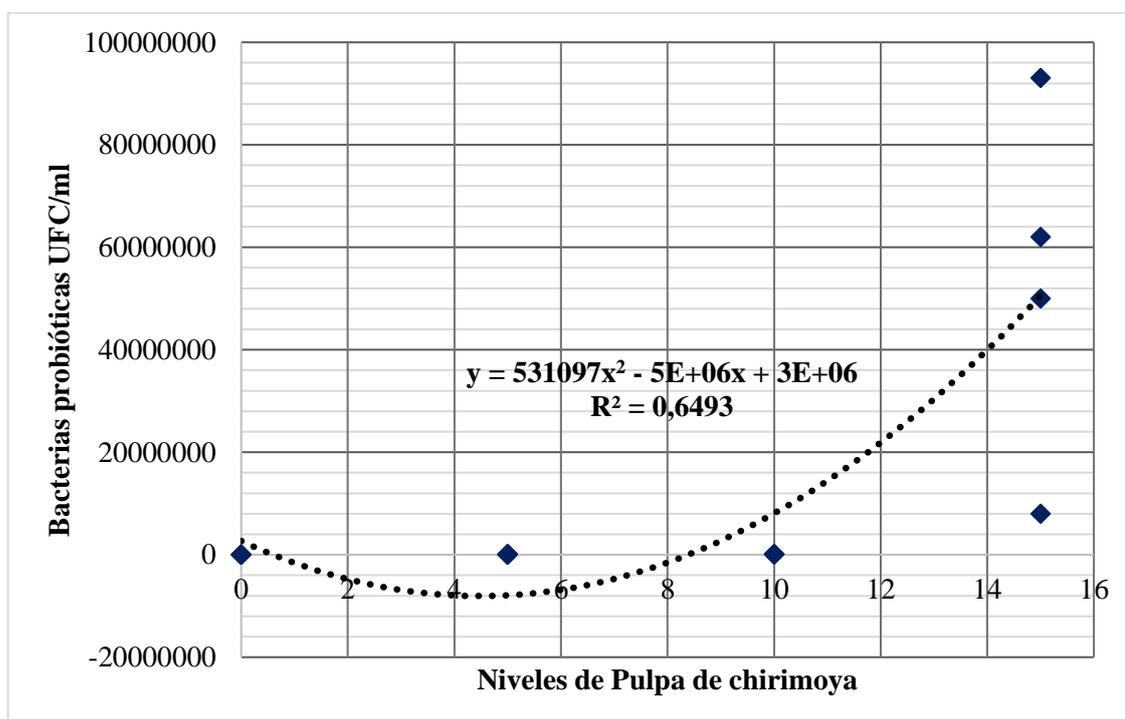
Al comparar estos resultados con (Villamar, 2021, p.73) quien elaboró una bebida probiótica utilizando la pulpa de jackfruit y diferentes niveles de sacarosa y té negro, el mejor resultado lo encontró al fermentar la bebida con el 30% té negro y 10 % de sacarosa, obteniendo una cantidad de microorganismos probióticos de  $9,2 \times 10^4$  UFC/ml, siendo menor a lo reportado en la

investigación y no considerándose una bebida probiótica. En otras investigaciones han utilizado la guanábana (*Annona muricata* L.) para elaborar una bebida fermentada a base de kombucha, donde presentó el mejor resultado de acuerdo a la metodología de superficie de respuesta con 300ml de jugo de guanábana, 700ml de té negro y 150g de azúcar por 14 días de fermentación, donde el crecimiento de bacterias probióticas fue de  $2,12 \times 10^6$  UFC/ml a los 7 días de almacenamiento a 4°C en oscuridad (Ching et al., 2020: pp.7-8), de la misma manera, este número de microorganismos es menor a lo obtenido en la investigación. Las diferencias en las investigaciones se deben a los cambios en la cantidad de té, la duración de la fermentación, la cantidad de sacarosa, el tipo de fruta o saborizante, el inóculo inicial (SCOBY), las condiciones de almacenamiento, etc., lo que provoca cambios en las condiciones óptimas para el crecimiento de las bacterias probióticas (Yang et al., 2022: p.670). Es así que (Antolak et al., 2021: p.7) menciona que en los primeros días de fermentación de kombucha, se encuentra una mayor cantidad de BAL, pero a mayor tiempo de fermentación este valor es nulo, así como es el caso de (Neffe et al., 2017: pp.601-607) quien en su investigación se basó en medir las condiciones de fermentación y así medir las propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales, reportando la ausencia de microorganismos probióticos en todos tratamientos, en el cual se midió la interacción de la temperatura (20, 25 y 30°C) y el tiempo de fermentación (0, 3, 7 10 días), esto nos demuestra que, mientras mayor tiempo de fermentación, la acidez aumenta y disminuye el pH, lo cual genera las condiciones inadecuadas para este tipo de microorganismos.

En concreto, las bacterias probióticas como el caso de *Bacillus subtilis* y *Lactobacillus cases*, han demostrado que su crecimiento óptimo en pH es de 5 - 5,6 (Jiménez et al., 2018: pp.256-275; Flores et al., 2021: pp.3259-3274 ) lo cual, es un limitante para el crecimiento de este tipo de microorganismos, es así que, en las investigaciones se menciona que por la acción de las bacterias acéticas genera un descenso en el pH menor a 3, generando un crecimiento muy limitado, esto se corrobora con (Coton et al., 2017: pp.1-17) quienes mencionan que las bacterias ácido-lácticas no crecen en un pH menor a 3,5, lo cual ocasiona la ausencia de estas bacterias en algunos estudios, de acuerdo a (Parada et al., 2020: pp.1-5) este tipo de microorganismos pueden desarrollarse de forma natural en valores de pH de 4 y 4,5, es por ello que, en la investigación se reporta el crecimiento de bacterias probióticas porque, el valor de pH se encuentra en ese rango. Otro aspecto que incide en la presencia de estas bacterias, es la chirimoya (*Annona cherimola*) al tener un alto porcentaje de azúcares (21,15%) de los cuales el 11,75% corresponde a glucosa y el 9,4% a fructosa (González, 2013, pp.59-60), lo que le convierte en un medio muy rico para el crecimiento de microorganismos, como fuente de carbono, así lo menciona (Isas et al., 2020: pp.1-11) quien en su investigación demostró que las bacterias ácido lácticas (*L. brevis*, *L. plantarum*, *L. rhamonosus*, *Fructobacillus tropaeoli*) pueden desarrollarse de forma idónea al utilizar la pulpa de chirimoya para elaborar

una bebida fermentada, donde obtuvo un crecimiento de  $1 \times 10^8$  UFC/ml, además, algunas de las bacterias se aislaron de la misma chirimoya, lo cual nos demuestra que la pulpa de esta fruta es un buen sustrato para fermentar la kombucha, llegando a obtener valores significativos. El número necesario de microorganismos que debe presentar el producto o alimento para considerarse probiótico es de mínimo  $1 \times 10^6$  UFC/ml, de acuerdo con la norma (NTE INEN 2395, 2011, pp.3-4). Es por ello que, al utilizar el 15% de pulpa de chirimoya, genera el número de microorganismos suficientes, para ubicarse en este rango y ser considerado probiótico.

En una investigación donde se comparó la composición microbiana de 9 marcas comercial de kombucha, se determinó que las diferencias en el tipo de té, saborizante y el contenido de azúcar generan variaciones en el dominio de microorganismos, siendo los más abundantes *Bacillus coagulans*, *Lactobacillus nagelii*, *Lactobacillus mali*, los cuales tienen potencial probiótico (Yang et al., 2022: p.670), además, en una revisión bibliográfica de varios autores se menciona que las principales bacterias probióticas encontradas en la kombucha son: *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus kefiranofaciens*, *Lactobacillus nagelii*, *Lactococcus spp.*, *Leuconostoc spp* (Antolak et al., 2021: p.4).



**Ilustración 5-4:** Bacterias probióticas en la bebida elaborada con diferentes niveles de pulpa de chirimoya

Realizado por: (Montero, Luis, 2022)

#### **4.2.4 Mohos y Levaduras**

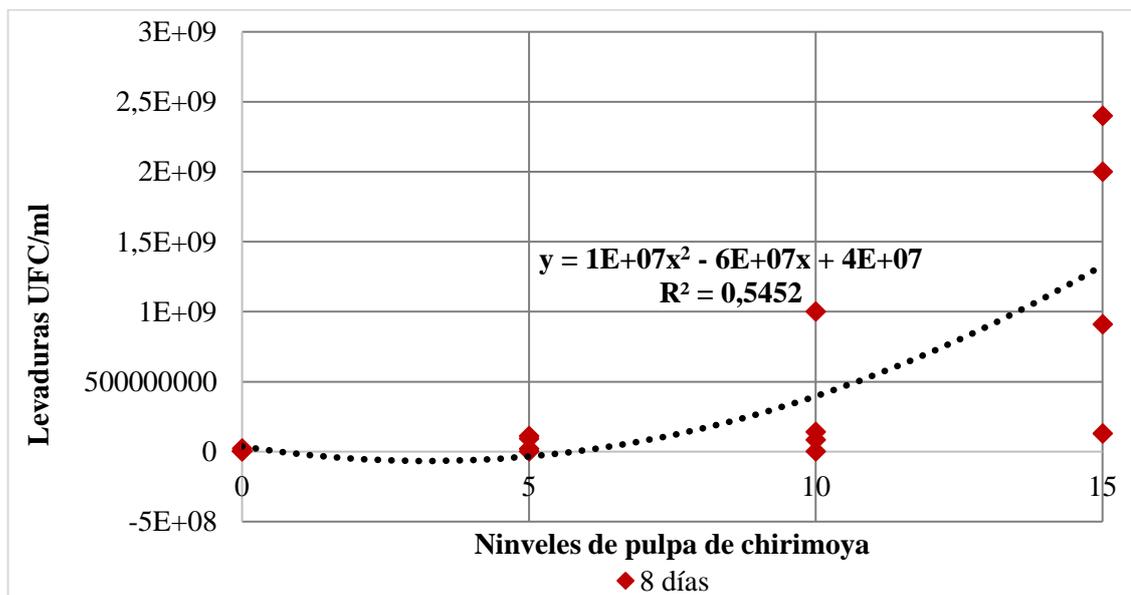
##### **4.2.4.1 Mohos**

La bebida probiótica a los 8 días de fermentación, en los análisis microbiológicos reportó la ausencia de mohos en todos los tratamientos como se observa en la tabla 2-4. Los mohos son hongos filamentosos que se encuentran en el agua, aire, suelo, vegetales, etc., se encuentran en gran cantidad en frutas, por lo cual se debe tener cuidado por la producción de micotoxinas, que ponen en riesgo la salud del consumidor (BBC MUNDO, 2018, p.1). Este microorganismo es un indicador de la calidad, lo cual, su ausencia nos asegura que el producto ha sido elaborado con las condiciones higiénicas adecuadas, asegurándonos que no generará ningún riesgo al consumidor.

##### **4.2.4.2 Levaduras**

Los diferentes niveles de pulpa de chirimoya generaron un efecto significativo en el crecimiento de levaduras a los 8 días de fermentación, encontrándose que, al utilizar el 15% de pulpa de chirimoya, se obtiene el crecimiento más alto en levaduras con  $1,36 \times 10^9$  UFC/ml, sin embargo, cuando se emplea el 0 y 5% de pulpa de chirimoya, el crecimiento de levaduras disminuye en  $8,13 \times 10^6$ ,  $5,55 \times 10^7$  UFC/ml respectivamente, como se observa en la tabla 2-4. De acuerdo con el análisis de la regresión, se estableció una tendencia cuadrática, misma que, al utilizar el 0% de pulpa de chirimoya genera una disminución del crecimiento de levaduras, en cambio, cuando se incrementa los niveles de pulpa de chirimoya la levadura aumenta (ver ilustración 6-4). Esto sucede por la cantidad de sustrato utilizado en cada tratamiento, de acuerdo a (Crow et al., 2016: p.1-3; Schneider et al, 2017: p.1) mientras más sacarosa se agregue a una solución, mayor es la tasa de crecimiento de las levaduras, debido a que las levaduras al consumir la sacarosa producen ATP y como producto metabólico, se obtiene CO<sub>2</sub>, esto genera que, mientras mayor cantidad de CO<sub>2</sub> mayor crecimiento de levaduras, de la misma forma, la respiración celular es la fuente de energía para el crecimiento y el CO<sub>2</sub> es un subproducto del proceso (Brase et al., 2017: p.1). Estos resultados son muy superiores a lo reportado por (Carvajal, 2019, pp.55-56) quien obtuvo una cantidad de  $82,5 \times 10^5$  UFC/ml de levaduras al fermentar la kombucha con desperdicios del café, de igual forma con lo reportado por (Yikmis & Tuggum, 2019: pp.1321-1327) quien fermentó la bebida de kombucha con albahaca morada y té negro en diferentes concentraciones, obteniendo el mejor resultado al fermentarlo con el té negro (100%) con un valor de  $2,51 \text{Log UFC/ml}$  de levaduras al día 1, además, destaca la importancia del tiempo de fermentación, en la investigación menciona que, a mayor tiempo de fermentación menor cantidad de levaduras, pero esto se contradice con lo que

menciona (Tran et al., 2020: p.963) quienes identificaron y aislaron diferentes levaduras de un té original de kombucha y lo inocularon en un té azucarado por 14 días a 26°C en condiciones de anaerobiosis (recipiente cerrado) y aerobiosis (recipiente abierto), donde, el crecimiento microbiano aumenta con el transcurso del tiempo. Lo que sí está comprobado es que las condiciones de almacenamiento provocan la disminución de este microorganismo, principalmente si se conserva a temperatura de refrigeración y oscuridad (Ching et al., 2020: pp.7-8). Las variaciones generadas en cada investigación se deben principalmente a las diferencias de la microflora del hongo, las mezclas de cepas que forman parte del scoby, debido a que, no todas son las mismas, esto de acuerdo con el tipo de té, fuente de carbono, temperatura, latitud, condiciones de almacenamiento, aerobiosis o anaerobiosis, luz, oscuridad, el inóculo inicial, entre otros (Ireneusz et al., 2022: p.1523). Es importante el cultivo mixto de levaduras, porque permite aumentar la intensidad de las reacciones, esto se debe a que diferentes cepas tienen una característica sobresaliente, por ejemplo, resistir a pH muy bajos, la capacidad de fermentar rápidamente, o la capacidad de fermentar un azúcar de alto grado. La levadura fermenta glucosa, fructosa, sacarosa, maltosa, lactosa o rafinosa (Kaewkod et al., 2019: p.700). El número de levaduras se encuentra dentro del rango permitido por la norma (NTE INEN 2395, 2011, pp.3-4).



**Ilustración 6-4:** Levaduras en la bebida elaborada con diferentes niveles de pulpa de chirimoya  
**Realizado por:** (Montero, Luis, 2022)

La simbiosis depende en gran parte de las levaduras para la producción de metabolitos y compuestos orgánicos que caracterizan a la kombucha. En términos más generales, el metabolismo de las levaduras es el principal factor que influye en la composición de la kombucha por otra parte la influencia de las bacterias AAB Y BAL es secundaria y afecta principalmente al perfil de ácidos orgánicos (Tran et al., 2020: p.963).

### 4.3 Análisis organoléptico

Se realizó el análisis de las propiedades organolépticas de la bebida probiótica a base de diferentes niveles de pulpa de chirimoya (*Annona cherimola*), se utilizaron 25 panelistas no estrenados, en el cual se aplicó una prueba afectiva escalar (escala hedónica de 5 puntos), siendo 1 (me disgusta extremadamente) y 5 (me gusta extremadamente), para su valoración se utilizó la prueba de Friedman, una prueba no paramétrica que se fundamenta en determinar si existe o no diferencias significativas entre medias de 3 o más grupos, en los cuales parecen los mismos sujetos de cada grupo (Stalagos, 2022, p.1). El objetivo de la evaluación sensorial es medir las propiedades sensoriales y determinar la importancia de estas, con el fin de predecir la aceptabilidad del consumidor, con lo cual, brinda a la industria las oportunidades de aprovechar y aplicar estas mediciones (INCAP, 2020, p.1).

**Tabla 3-4:** Valoración organoléptica de la bebida probiótica elaborada con diferentes niveles de pulpa de chirimoya

Niveles de pulpa de chirimoya	ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA $\bar{x}$			
	OLOR	COLOR	SABOR	APARIENCIA
0%	2,84 No me gusta ni me disgusta	3,40 No me gusta ni me disgusta	2,60 No me gusta ni me disgusta	3,40 No me gusta ni me disgusta
5%	3,36 No me gusta ni me disgusta	3,36 No me gusta ni me disgusta	2,96 No me gusta ni me disgusta	3,40 No me gusta ni me disgusta
10%	3,32 No me gusta ni me disgusta	3,68 Me gusta poco	2,44 Me disgusta poco	3,28 No me gusta ni me disgusta
15%	3,40 No me gusta ni me disgusta	3,36 No me gusta ni me disgusta	2,96 No me gusta ni me disgusta	3,24 No me gusta ni me disgusta
Prob.	0,1487	0,0911	0,1852	0,9574

$\bar{x}$ : Media

PROB. > 0,05: No hay diferencias estadísticas

Realizado por: (Montero, Luis, 2022)

### **4.3.1 Olor**

El olor en la bebida probiótica no presenta diferencias estadísticas, por efecto de los diferentes niveles de pulpa de chirimoya, ubicándose en la categoría de “no me gusta ni me disgusta” con un rango de 2,84 a 3,40 (ver tabla 3-4). El aroma de la kombucha, está influenciado de las materias primas (té negro) y los microbios (levaduras y bacterias), pero el mayor impacto se debe al ácido acético y a los compuestos volátiles (COV), entre estos se destacan 3-hexanol, linalol, geraniol, 2-fenil-etanol, damascenona y 2,5-dimetil-4-hidroxi-3-furona (DMHF), alguno de estos COV son producidos por levaduras (*Candida*, *Hanseniaspora*, *Pichia*, *Dekkera* y *Saccharomyces*) (Rosend et al., 2019: p.1953; Wei et al., 2019: pp.191.198). Además, los polifenoles del té negro generan una reacción oxidativa que libera los compuestos aromáticos antes de la fermentación (Zhang et al., 2018: pp.705-713). Es importante mencionar que, mientras la bebida se fermenta más, hay mayor producción de ácidos orgánicos que mejoran el aroma de la kombucha pero disminuye la aceptación del sabor (Zubaidah et al., 2018: pp.6-7).

### **4.3.2 Color**

Al evaluar el color de la bebida probiótica, los tratamientos no presentaron diferencias estadísticas, por efecto de los diferentes niveles de pulpa de chirimoya, encontrándose que, al utilizar el 10% pulpa de chirimoya, se obtiene la mayor valoración numérica con 3,68, ubicándose en la categoría de “Me gusta poco”, los demás tratamientos se ubican en la categoría “no me gusta ni me disgusta” (ver tabla 3-4). El color de la bebida se debe principalmente a los polifenoles que se extraen del té, debido a que, el color característico del té negro es generado por la oxidación de la enzima polifenol oxidasa (PPO), esta oxidación genera la polimerización de los polifenoles nativos que se encuentran en el té, principalmente las catequinas (epicatequina, epigallocatequina y sus derivados de éster de ácido gálico) en diferentes tipos de polímeros (Tran et al., 2020: p.963). Las teaflavinas y teaurubiginas son dos polímeros que dan el color negro a la bebida, por lo tanto, se puede especular que los polifenoles del té son los que generan la mayor parte de color en la bebida probiótica (Tran et al., 2020: p.963).

### **4.3.3 Sabor**

El sabor de la bebida probiótica no presenta diferencias estadísticas, por el efecto de los diferentes niveles de pulpa de chirimoya, de acuerdo con la valoración, el sabor de la bebida se ubica en un rango de 2,44 – 2,96, ubicándose en la escala de “me gusta poco y no me gusta ni me disgusta” (ver tabla 3-4). Muchas de las bebidas presentan una alta concentración de sacarosa, lo cual le

confiere sabores más dulces, más frutales, en cambio, si el contenido de azúcar es más bajo se generan sabores más astringentes, acres, amargos, vinagre balsámico, esto se debe a la formación de ácidos orgánicos debido a la presencia de bacterias acéticas (*Komagataeibacter*, *Gluconobacter*, etc.) que transforman la glucosa en ácido glucónico y el etanol en ácido acético, provocando estos sabores en la bebida (Li et al., 2022: pp.4-5). Incluso, las temperaturas bajas generan sabores más dulces por un proceso lento de fermentación y las temperaturas altas provocan sensaciones de “hormigueo”, “Arrugas” y “agrio” (Phetxumphou et al., 2021: pp.5-6).

#### **4.3.4 Apariencia**

La apariencia de la bebida probiótica no presenta diferencias estadísticas, por efecto de los diferentes niveles de pulpa de chirimoya, destacando que, la bebida se ubica en la categoría “no me gusta ni me disgusta”, por presentar una valoración de 3,24 a 3,40 (ver tabla 3-4). La kombucha al tener cierta similitud con la cerveza, se filtra para tener un color más claro, si este proceso no se realiza, genera que presente turbidez, esto ocasionado por sólidos en suspensión (coloides), estos pueden ser originados por polifenoles, fibras celulares producidas por bacterias del ácido acético (Zhang et al., 2018: pp.705-713; citados en Bishop et al., 2022: p.6). Esto puede generar cierta desconfianza por parte del consumidor.

### **4.4 Análisis Económico**

#### **4.4.1 Costo de producción**

Los costos de producción se calcularon por cada litro de bebida elaborada, determinándose que, el valor incrementa, conforme aumentan los niveles de pulpa de chirimoya, es así que, al utilizar el 15% de pulpa de chirimoya genera el mayor costo de producción por litro de bebida con \$ 3,22, mientras que, al elaborar la bebida con el 0% de pulpa de chirimoya, genera un costo de producción de \$ 2,07, siendo más económico, como se aprecia en la tabla 4-4.

#### **4.4.2 Beneficio/Costo**

Se determinó que, mientras se aumenta los niveles de pulpa de chirimoya, el costo de producción incrementa y el beneficio disminuye, es así que, mediante el indicador beneficio/costo se determina que, al emplear el 15% de pulpa de chirimoya, se obtiene el valor más bajo con \$ 1,09, mientras que, al utilizar el tratamiento control, este valor aumenta a \$ 1,69, como se aprecia en la tabla 4-4, cabe destacar que, este producto no cuenta con ninguna propiedad funcional.

**Tabla 4-4:** Análisis económico de la elaboración de la bebida probiótica con diferentes niveles de pulpa de chirimoya

DESCRIPCIÓN	Cantidad	Horas	Unidad	Precio unitario	Precio total	Niveles de pulpa de chirimoya			
						0%	5%	10%	15%
Chirimoya	1,2		Kg	7,50	9,00	0	1,5	3	4,5
Pepino Dulce	1,6		Kg	0,63	1,00	0,25	0,25	0,25	0,25
SCOBY	0,8		Kg	15,00	12	3	3	3	3
Agua	12,320		L	0,24	2,90	0,79	0,75	0,70	0,65
Té negro	80		g	0,05	4,35	1,09	1,09	1,09	1,09
Envase de plástico	16			0,21	3,36	0,84	0,84	0,84	0,84
Mano de obra	1	4		7,50	7,50	1,9	1,9	1,9	1,9
Gas y Energía eléctrica					0,15	0,04	0,04	0,04	0,04
<b>TOTAL, EGRESOS</b>					<b>40,26</b>	<b>7,88</b>	<b>9,34</b>	<b>10,79</b>	<b>12,24</b>
<b>Cantidad de Producto (L)</b>						3,8	3,8	3,8	3,8
<b>Costo de producción dólares/Litro</b>						2,07	2,46	2,84	3,22
<b>Precio por cada Litro</b>						3,50	3,50	3,50	3,50
<b>TOTAL, INGRESOS</b>						13,30	13,30	13,30	13,30
<b>BENEFICIO/COSTO</b>						<b>1,69</b>	<b>1,42</b>	<b>1,23</b>	<b>1,09</b>

Realizado por: (Montero, Luis, 2022)

## CONCLUSIONES

- El empleo del 15% de pulpa de chirimoya (*Annona cherimola*), genera las condiciones adecuadas, para ser usado como sustrato en la elaboración de una bebida probiótica, por cumplir el requerimiento mínimo de acuerdo con la norma (NTE INEN 2938:2011) para considerarse un alimento funcional, y por presentar las mejores características fisicoquímicas, de acuerdo con las normas (NTE INEN 1101, 2017; DUS 2037, 2018).
- Al emplear el 15% de pulpa de chirimoya, presenta las mejores características fisicoquímicas, al inicio y a los 8 días de fermentación, con un pH de 5 que disminuye a 4, lo mismo que los sólidos solubles con 4,88 a 1,62°Brix valor ajustado, en cambio, la acidez aumenta de 0,11 a 0,37g/100ml ácido acético y el alcohol con 1,02% valor ajustado. En los análisis microbiológicos, no hubo la presencia de *Escherichia coli*, coliformes totales y mohos, debido al contenido de ácidos orgánicos en la bebida, lo cual nos demuestra que el producto es apto para el consumo humano. El crecimiento de bacterias probióticas y levaduras fue mayor, al utilizar el 15% de pulpa de chirimoya con  $5,32 \times 10^7$  UFC/ml y  $1,36 \times 10^9$  UFC/ml respectivamente. Los niveles de pulpa de chirimoya no influyen, en los parámetros organolépticos de la bebida, ubicándose en la categoría de “no me gusta ni me disgusta”.
- Elaborar una bebida con el 0% de pulpa de chirimoya, genera un costo de producción dólares/litro de 2,07, alcanzando una relación costo/beneficio de \$ 1,69, presentando la mayor rentabilidad, pero sin ningún beneficio funcional, en cambio, emplear el 15% de pulpa de chirimoya, genera el costo de producción más alto por litro de bebida \$ 3,22, con el B/C más bajo \$ 1,09, presentando un valor adicional por ser un producto funcional.

## **RECOMENDACIONES**

- Elaborar la bebida utilizando el 15% de pulpa de chirimoya, porque, presenta el número de microorganismos viables para considerarse un alimento probiótico.
- Continuar con el estudio, e investigar, el efecto de la hierbaluisa como un potenciador en las características organolépticas de la bebida elaborada con el 15% de pulpa de chirimoya.
- Socializar a la población en general el consumo de la bebida probiótica, elaborada con el 15% de pulpa de chirimoya, debido a que, aumenta la diversidad de microorganismos viables en la flora bacteriana y de esta forma, permite fortalecer el sistema inmunológico de las personas.

## BIBLIOGRAFÍA

**AHUJA, Kunal; & SINGH, Sonal.** *Kombucha Market Size, by Product (Organic and inorganic), by Type (Original and flavored (Hevs & Spices, Fruits, Flowers and Others), By Distribution Channel (Supermarkets / Hypermarkets, Convenience Stores, Health Stores, Online Retailers and others) Industry Analysis Report, Regional Outlook, Application Development Potential Covid-19 Impact Analysis, Price Trends, Competitive Market Share & Forecast, 2021 – 2027* [en línea]. 2020. [Consulta: 9 mayo 2022]. Disponible en: <https://www.gminsights.com/industry-analysis/kombucha-market>

**AFEPADI.** *Las nuevas tendencias de consumo aumentan en la búsqueda de probióticos en internet* [en línea]. 2021. [Consulta: 22 marzo 2022]. Disponible en: <https://www.afepadi.org/index.php/component/k2/item/553-nuevas-tendencias-de-consumo-aumentan-busqueda-probioticos-en-internet>

**AL-MOHAMMADI, Abdul Raouf; et al.** “Chemical Constitution and Antimicrobial Activity of Kombucha Fermented Beverage”. *Molecules* [en línea], 2021, 26(16), pp. 5-13. [Consulta: 02 septiembre 2022]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8401643/pdf/molecules-26-05026.pdf>

**ANSARI, Fereshteh; et al.** “Evaluation of the Glucuronic Acid Production and Antibacterial Properties of Kombucha Black Tea”. *Current Pharmaceutical Biotechnology* [en línea], 2019, 20(11), pp. 985-990. [Consulta: 18 abril 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.2174/1389201020666190717100958>

**ANTOLAK, Hubert; et al.** “Kombucha Tea-A Double Power of Bioactive Compounds from Tea and Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts (SCOBY)”. *Antioxidants* [en línea], 2021, 10, pp. 4-7. [Consulta: 10 septiembre 2022]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8532973/pdf/antioxidants-10-01541.pdf>

**ARRUDA, Anolivia; et al.** “Development, microbiological and physicochemical analysis of kombucha-based fermented beverage”. *Research, Society and Development* [en línea], 2020, (Brazil) 9(11), pp. 1-13. [Consulta: 02 septiembre 2022]. ISSN 2525-3409. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i11.10021>

**AYED, Lamia; et al.** “Development of a beverage from red grape juice fermented with the kombucha consortium”. *Annals of Microbiology* [en línea], 2017, 67, pp. 111-121. [Consulta: 02 septiembre 2022]. Disponible en: <https://annalsmicrobiology.biomedcentral.com/articles/10.1007/s13213-016-1242-2#citeas>

**BARBOSA, Cosme Damião; et al.** “Enumeration and isolation of acid acetic bacteria in kombucha during fermentation”. *Microbiotec* [en línea], 2019, (Portugal), p. 468. [Consulta: 18 abril 2022]. Disponible en: <https://repositorio.ucp.pt/bitstream/10400.14/29793/1/P403.%20Enumeration%20and%20isolation%20of%20acid%20acetic%20bacteria%20in%20kombucha%20during%20fermentation.pdf>

**BBC MUNDO.** *¿Cuándo es el moho en los alimentos peligrosos para la salud?* [en línea]. 2018. [Consulta: 12 septiembre 2022]. Disponible en: <https://www.bbc.com/mundo/noticias-42703692#:~:text=Si%20un%20alimento%20tiene%20mucho,sustancias%20venenosas%20para%20nuestra%20salud.>

**BELLUT, Konstantin; et al.** “Application of Non-*Saccharomyces* Yeasts Isolated from Kombucha in the production of Alcohol-Free Beer”. *Fermentation* [en línea], 2018, 4(3), p. 66. [Consulta: 18 marzo 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/fermentation4030066>

**BISHOP, Peyton; et al.** “Kombucha: Biochemical and microbiological impacts on the chemical and flavor profile”. *Food Chemistry Advances* [en línea], 2018, (U.S.A) 1, p. 6. [Consulta: 24 septiembre 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.focha.2022.100025>

**BOTREL, Neide; & DE CASTRO E MELO, Rafael Augusto.** “Quality aspects of pepino dulce fruits in distinct ripening stages, packaging forms and storage conditions”. *Brazilian Journal Of Food Technology* [en línea], 2018, (Brazil) 23, p. 6. [Consulta: 24 Julio 2022]. Disponible en: <https://www.scielo.br/j/bjft/a/NT9whqQKhsJqMxNvyXyWxnc/?lang=en>

**BRANDESSENCE MARKET RESEARCH.** *At 8,4% CAGR, Probiotics Market Size is Expected to Reach USD 108.16 Billion to 2028 By Globally, says Brandessence Market Research* [en línea]. 2022. [Consulta: 7 mayo 2022]. Disponible en: <https://www.prnewswire.com/news-releases/at-8-4-cagr-probiotics-market-size-is-expected-to-reach-usd-108-16-billion-to-2028-by-globally-says-brandessence-market-research-301497707.html>

**BRASE, Sarah; et al.** “Yeast is a Beast at Producing CO<sub>2</sub>”. *Journal of Introductory Biology Investigations* [en línea], 2017, 7(3), p. 1. [Consulta: 02 noviembre 2022]. Disponible en: <https://undergradsciencejournals.okstate.edu/index.php/jibi/article/view/6368#:~:text=Carbon%20Dioxide%20levels%20directly%20correlate,a%20byproduct%20of%20the%20process.>

**CAMPOS, Adriana; et al.** “Functional Foods as Source of Bioactive Principles: Some Marked Examples. EN V. Cechinel Filho (Ed.)”. *Natural Products as Source of Molecules with Therapeutic Potential* [en línea], 2018, (Suiza), pp. 111-157. [Consulta: 18 marzo 2022]. Disponible en: [10.1007/978-3-030-00545-0\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-030-00545-0_4)

**CARDOSO, Rodrigo Rezende; et al.** “Kombucha from green and black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities”. *Food Research International* [en línea], 2020, (Brazil) 128, p. 4. [Consulta: 26 agosto 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108782>

**CARVAJAL PIONCE, Saúl Ricardo.** Aprovechamiento de los desperdicios del café para la elaboración de una Kombucha (*Medusomyces gisevi*) a partir de borras de café [en línea] (Trabajo de titulación). (Maestría) Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador. 2019. pp. 55-57. [Consulta: 20 marzo 2022]. Disponible en: <https://1library.co/document/yd7we3gy-aprovechamiento-desperdicios-elaboracion-kombucha-medusomyces-gisevi-partir-borras.html>

**CASTAÑEDA, Carlos.** *Probióticos. Capítulo 6. Ecosistema Intestinal* [en línea]. 2da Ed. Quito-Ecuador: Editorial Mendieta, 2014. [Consulta: 18 marzo 2022]

**CASTAÑEDA GUILLOT, Carlos.** “Probióticos, puesta al día”. *Revista Cubana de Pediatría* [en línea], 2018, (Cuba) 90(2), p. 1. [Consulta: 22 marzo 2022]. Disponible en: <http://www.revpediatria.sld.cu/index.php/ped/article/view/500/195>

**CHING TAN, Wee; et al.** “Influence of Storage Condition on the Quality Metabolites, and Biological Activity of Soursop (*Annona muricata*. L.) Kombucha”. *Sec. Food Microbiology* [en línea], 2020, (Malaysia) 11, pp. 1-8. [Consulta: 20 Julio 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.603481>

**COTON, Monika; et al.** “Unraveling microbial ecology of industrial-scale Kombucha fermentations by metabarcoding and culture-bases methods”. *FEMS Microbiology Ecology* [en línea], 2017, (Belgium) 93(5), pp. 1-17. [Consulta: 26 septiembre 2022]. Disponible en:

<https://doi.org/10.1093/femsec/fix048>

**CROW, Lauren; et al.** “Effects of increasing Sucrose Concentrations on CO<sub>2</sub> Output in Yeast”. *Journal of Introductory Biology Investigations* [en línea], 2016, 4(3), pp. 1-3. [Consulta: 02 noviembre 2022]. Disponible en: <https://undergradsciencejournals.okstate.edu/index.php/jibi/article/view/2648>

**CRUM, Hannah; & LAGORY, Alex.** *The Big Book of Kombucha: Brewing, Flavoring, and Enjoying the Health Benefits of Fermented Tea.* [en línea]. Storey Publishing, LLC, 2016. [Consulta: 18 marzo 2022]. Disponible en: <https://www.amazon.com/Big-Book-Kombucha-Flavoring-Fermented/dp/161212433X>

**CUJILEMA TENE, Grace Alexandra.** *Bebidas Funcionales Desarrolladas a partir de una comunidad simbiótica de levaduras y bacterias (SCOBY)* [en línea] (Trabajo de titulación). (Pregrado) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador. 2021. p. 20. [Consulta: 20 marzo 2022]. Disponible en: <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/15538/1/27T00491.pdf>

**De FILIPPIS, Fransesca; et al.** “Different temperatures select distinctive acetic acid bacteria species and promotes organic acids production during Kombucha tea Fermentation”. *Food Microbiology* [en línea], 2018, (Italy) 73, pp. 11-16. [Consulta: 18 marzo 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.01.008>

**DÍAZ, Karen; et al.** “Estudio químico del aroma y bioactividad de la fruta de pepino dulce (*Solanum muricatum*)”. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* [en línea], 2021, (Colombia) 45(175), p. 586. [Consulta: 17 Julio 2022]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/racefn/v45n175/0370-3908-racefn-45-175-582.pdf>

**DÍAZ LÓPEZ, Elvis Alexander; et al.** “Probióticos en la avicultura: una revisión”. *Revista de Medicina Veterinaria* [en línea], 2017, (Colombia) 35, pp. 175-189. [Consulta: 15 septiembre 2022]. ISSN 2389-8526. Disponible en: <https://doi.org/10.19052/mv.4400>

**DRAGOLJUB, D.; et al.** “Producing Kombucha Beverage from Winter Savory (*Satureja montana* L.) tea inoculated by Pellicle”. *Acta Periodica Technologica* [en línea], 2006, (Serbia) 37. [Consulta: 20 Julio 2022]. ISSN 2683-3867. Disponible en: <https://doi.org/10.2298/APT0637119C>

**DUCHI ALBARRACÍN, María Isabel.** Caracterización pomológica y agromorfológica de chirimoya (*Annona cherimola* Mill.), existentes en el INIAP y Universidad de Cuenca [En línea], (Trabajo de Titulación). (Pregrado) Universidad De Cuenca, Cuenca, Ecuador. 2017. p. 136. [Consulta: 24 Julio 2022]. Disponible en: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/28100/1/tesis.pdf>

**DUS 2037, 2018.** *Kombucha-Specification*.

**ISAS, Ana Sofia; et al.** “Functional fermented chirimoya (*Annona cherimola* Mill.) juice using autochthonous lactic acid bacteria”. *Food Res Int* [en línea], 2020, (Argentina) 138, p. 1-11. [Consulta: 16 abril 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109729>

**EQUINOX.** *What is Kombucha?* [en línea]. 2022. [Consulta: 12 mayo 2022]. Disponible en: <https://equinoxkombucha.com/about/what-is-kombucha/>

**FAULKNER, Andrew.** *Pepino Dulce: Diurético, Hidratante, Bajas en calorías y Recomendado contra el bocio* [en línea]. 2007. [Consulta: 22 marzo 2022]. Disponible en: <https://plantitas.wordpress.com/2007/12/12/pepino-dulce-diurtico-hidratante-bajas-caloras-y-recomendado-contr-el-bocio/>

**FILOFTEIA, Camelia; et al.** “The Biothechnological Potential of *Pediococcus* spp. Isolated from Kombucha Microbial Consortium”. *Foods* [en línea], 2020, (Romania) 9(12), p. 1780. [Consulta: 26 septiembre 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/foods9121780>

**FLORES GARCIA.** *¿Que son los Sólidos Solubles en frutas?* [en línea]. 2021. [Consulta: 24 Julio 2022]. Disponible en: <https://la-respuesta.com/mas-popular/que-son-los-solidos-solubles-totales-en-frutas/>

**FLORES TIXICURO, Jessica; et al.** “Optimización estadística de un bioproceso de ácido láctico a partir de lactosuero”. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar* [en línea], 2021, (México) 5(3), pp. 3259-3279. [Consulta: 10 septiembre 2022]. ISSN 2707-2207. Disponible en: <https://ciencialatina.org/index.php/cienciala/article/view/530/682>

**FRUTAS & HORTALIZAS.** *Chirimoya, Annona cherimola / Annonaceae* [en línea]. 2022. [Consulta: 20 marzo 2022]. Disponible en: <https://www.frutas-hortalizas.com/Frutas/Presentacion-Chirimoya.html>

**GAGGIA, Francesca; et al.** “Kombucha Beverage from Green, Black and Rooibos Teas: A Comparative Study Looking at Microbiology, Chemistry and Antioxidant Activity”. *Nutrients* [en línea], 2019, (Italia; Dinamarca) 11(1), p. 7. [Consulta: 18 marzo 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/nu11010001>

**GARCÉS, Sara.** *Chirimoya: Descubre las propiedades del mejor manjar blanco* [en línea]. 2020. [Consulta: 20 marzo 2022]. Disponible en: <https://quierocakes.com/chirimoya-propiedades/>

**GOMES, Rodrigo José; et al.** “Acetic acid bacteria in the food industry: Systematics, characteristics and applications”. *Food Technol Biothechnol* [en línea], 2018, (Brazil) 56(2), pp. 139-151. [Consulta: 06 noviembre 2022]. ISSN 1330-9862. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6117990/>

**GONZÁLEZ, Martha.** *Consecuencias del COVID-19 en el sistema inmunológico, factores de riesgo y tipos de infartos al miocardio en el segundo día de las XII Jornadas de actualización Médicas* [en línea]. 2022. [Consulta: 12 mayo 2022]. Disponible en: <http://www.cualtos.udg.mx/noticia/consecuencias-del-covid-19-en-el-sistema-inmunologico-factores-de-riesgo-y-tipos-de-infartos>

**GONZÁLEZ TELLEZ, S.; et al.** “Bebidas fermentadas nutracéuticas elaboradas a partir de hongo Kombucha y su uso potencial en el tratamiento del Síndrome metabólico”. *Investigación y Desarrollo en Ciencias y Tecnología de Alimentos* [en línea], 2018, (México) 3, p. 339. [Consulta: 20 marzo 2022]. Disponible en: <http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume3/4/4/56.pdf>

**GONZÁLEZ VEGA, María Esther.** “Chirimoya (*Annona cherimola* Miller), frutal tropical y sub-tropical de valores premissorios”. *Cultivos Tropicales* [en línea], 2013, (Cuba) 34(3), pp. 59-60. [Consulta: 20 marzo 2022]. ISSN 0258-5936. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0258-59362013000300008](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362013000300008)

**GRAHAM, Colleen.** *How to Make Kombucha Fizzy and Flavortful* [en línea]. 2020. [Consulta: 24 septiembre 2022]. Disponible en: <https://www.thespruceeats.com/how-to-make-fizzy-kombucha-3016714>

**GRANDA, Betsabé; & ESTUPIÑÁN, Laura.** Estudio de la Factibilidad para la elaboración de una bebida de tipo Kombucha a base de té de guayusa (*Ilex guayusa*) [En línea] (Trabajo de titulación). (Maestría) Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador. 2019. pp. 19-26.

[Consulta: 19 marzo 2022]. Disponible en:  
<http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/46806/1/BINGQ-GS-19P71.pdf>

**GUERRERO CÁCERES, Carlos Arturo.** Determinación del contenido de compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante en fibra dietética extraída de cultivos ancestrales andinos para su utilización como suplemento alimenticio [En línea] (Trabajo de titulación). (Pregrado) Universidad Técnica de Ambato, Ambato, Ecuador. 2012. p. 45. [Consulta: 20 marzo 2022]. Disponible en: <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/3068/1/BQ34.pdf>

**GUERRERO SANCHEZ, Marco Iván.** Estudio de Factibilidad para la producción, y comercialización de chirimoya (*Annona cherimola* Mill), Ecotipo Y61 Tumbaco – Pichincha [En línea] (Trabajo de titulación). (Pregrado) Universidad de San Francisco de Quito, Quito, Ecuador. 2012. p. 1. [Consulta: 12 mayo 2022]. Disponible en: <https://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/1822/1/104357.pdf>

**GUNNARS, Kris.** *Probiotics 101: A simple Beginner's guide* [en línea]. 2021. [Consulta: 12 mayo 2022]. Disponible en: <https://www.healthline.com/nutrition/probiotics-101>

**GUZMÁN ORTIZ, Monica Aidee.** Resistencia de Microorganismos aislados de Kombucha a condiciones del tracto gastrointestinal in vitro [En línea] (Trabajo de titulación). (Maestría) Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C., Jalisco, México. 2021. p. 46. [Consulta: 01 septiembre 2022]. Disponible en: <https://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1023/766/1/M%c3%b3nica%20Aidee%20Guzm%c3%a1n%20Ortiz.pdf>

**HAN, James.** *What are Glluconic acid (E574) and Gluconates in Food and Uses?* [en línea]. 2020. [Consulta: 02 octubre 2022]. Disponible en: <https://foodadditives.net/acidulents/gluconic-acid/#:~:text=Some%20food%20and%20beverage%3A%20as,used%20to%20clean%20aluminium%20cans.>

**HELMENSTINE, Anne.** *What is Fermentation? Definition and Examples* [en línea]. 2020. [Consulta: 24 Julio 2022]. Disponible en: <https://www.thoughtco.com/what-is-fermentation-608199>

**INBODY.** *¿Qué hace exactamente la Kombucha por ti?* [Blog]. 2018. [Consulta: 19 marzo 2022]. Disponible en: <https://inbodylatinamerica.com/que-hace-exactamente-kombucha-por-ti/>

**INSTITUTO DE NUTRICIÓN DE CENTRO AMÉRICA Y PANAMÁ (INCAP).** *Análisis sensorial para el control de calidad de alimentos* [en línea]. 2020. [Consulta: 23 septiembre 2022]. Disponible en: <http://www.incap.int/index.php/es/noticias/201-analisis-sensorial-para-control-de-calidad-de-los-alimentos#:~:text=El%20prop%C3%B3sito%20de%20la%20evaluaci%C3%B3n,aprovechar%20y%20aplicar%20estas%20mediciones.>

**INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA Y CENSO (INEC).** *Estadísticas Agropecuarias* [en línea]. 2021. [Consulta: 12 mayo 2022]. Disponible en: <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/estadisticas-agropecuarias-2/>

**IRENEUSZ KLUS, Maciej; et al.** “Microbiological and Physicochemical Composition of Various Type of Homemade Kombucha Beverages Using Alternative Kinds of Sugars”. *Foods* [en línea], 2022, (Poland) 11(10), p. 1523. [Consulta: 15 septiembre 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/foods11101523>

**IVANISOVÁ, Eva; et al.** “The evaluation of chemical, antioxidant, antimicrobial and Sensory properties of Kombucha tea beverage”. *J Food Sci Technol* [en línea], 2020, (India) 57(5), pp. 1840-1846. [Consulta: 26 agosto 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04217-3>

**JAYABALAN, R.; et al.** “Una revisión sobre la microbiología, la composición, la fermentación, los efectos beneficiosos, la toxicidad y el hongo del té de Kombucha”. *Revisiones Completas en Ciencias de los Alimentos y Seguridad Alimentaria* [en línea], 2014, 13(4), pp. 538-550. [Consulta: 18 marzo 2022]. ISSN 1541-4337. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12073>

**JHONSON, Maren.** *The 9-point Hedonic Scale* [en línea]. 2021. [Consulta: 01 septiembre 2022]. Disponible en: <https://www.sensorysociety.org/knowledge/sspwiki/Pages/The%209-point%20Hedonic%20Scale.aspx>

**JIMÉNEZ DELGADILLO, Rocío; et al.** “Effect of pH and temperature on the grow and antagonistic activity of *Bacillus subtilis* on *Rhizoctonia solani*”. *SciELO* [en línea], 2018, (México) 36(2), pp. 256-275. [Consulta: 10 septiembre 2022]. Disponible en: <https://www.scielo.org.mx/pdf/rmfi/v36n2/2007-8080-rmfi-36-02-256.pdf>

**KAASHYAP, Mayank; et al.** “Microbial Diversity and Characteristics of Kombucha as Revealed by Metagenomic and Physicochemical Analysis”. *Nutrients* [en línea], 2021, (Australia) 13(12), p. 4446. [Consulta: 26 septiembre 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/nu13124446>

**KAEWKOD, Thida; et al.** “Efficacy of Kombucha Obtained from Green, Oolong, and Black Teas on Inhibition of Pathogenic Bacteria, Antioxidation, and Toxicity on Colorectal Cancer Cell Line”. *Microorganisms* [en línea], 2019, 7(12), p.700. [Consulta: 01 septiembre 2022]. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2076-2607/7/12/700/htm>

**KAPP, Julie; & SUMMER, Walton.** “Kombucha: a Systematic Review of the empirical evidence of human health benefit”. *Annals of Epidemiology* [en línea], 2019, (U.S.A) 30, pp. 66-70. [Consulta: 03 octubre 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2018.11.001>

**KAWAMATA, S.** “Studies on sugar component of fruits by gas-liquid chromatography”. *Bulletin of Tokyo to Agricultural Experiment Station* [en línea], 1977, (Japón) 10, pp. 53-67. [Consulta: 20 marzo 2022]. ISSN 0563-8402. Disponible en: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=JP19770222366>

**KECHAGIA, Maria; et al.** “Health Benefits of Probiotics: A Review”. *ISRN Nutrition* [en línea], 2013, (Greece), pp. 4-5. [Consulta: 16 abril 2022]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4045285/#:~:text=The%20reported%20beneficial%20effects%20of,use%20%5B3%2C%204%5D>.

**KHALEIL, Mona; et al.** “A bioprocess Development study of Polyphenol profile, antioxidant and antimicrobial activities of Kombucha enriched with *Psidium guajava* L.”. *Journal of Microbiology, Biothecnology and Food Sciences* [en línea], 2020, (Egypt) 9(6), pp. 1204-1210. [Consulta: 02 septiembre 2022]. ISSN 1338-5178. Disponible en: [https://www.jmbfs.org/issue/june-july-2020-vol-9-no-6/jmbfs\\_2244\\_khaleil/?issue\\_id=7366&article\\_id=16](https://www.jmbfs.org/issue/june-july-2020-vol-9-no-6/jmbfs_2244_khaleil/?issue_id=7366&article_id=16)

**KHOSRAVI, Shahab; et al.** “Development of fermented date syrup using Kombucha starter culture”. *Journal of Food Processing and Preservation* [en línea], 2019, 43(2). [Consulta: 18 abril 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/jfpp.13872>

**KS EAS 104, 2014.** *Alcoholic beverages – Methods of sampling and test.*

**LA OPINIÓN.** *Alimentos probióticos, nueva tendencia del mercado para fortalecer el cuerpo* [en línea]. 2021. [Consulta: 22 marzo 2022]. Disponible en: <https://www.laopinion.com.co/vida-y-salud/alimentos-probioticos-nueva-tendencia-del-mercado-para-fortalecer-el-cuerpo>

**LAURENSEN, Seth; et al.** “Novel Use of Kombucha consortium to reduce *Escherichia coli* in dairy shed effluent”. *J Sci Food Agric* [en línea], 2021, (New Zealand) 101(14), pp. 6143-6146. [Consulta: 01 septiembre 2022]. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/350802530>

**LAUREYS, David; et al.** “Kombucha Tea Fermentation: A Review”. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* [en línea], 2020, (Belgium) 78(3), pp. 165-174. [Consulta: 10 septiembre 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/03610470.2020.1734150>

**Li, Ruyi; et al.** “Enhancing the proportion of gluconic acid with a microbial community reconstruction method to improve the taste Quality of Kombucha”. *LWT* [en línea], 2022, (China) 155, pp. 4-5. [Consulta: 24 septiembre 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112937>

**LINDAHL, Lina; et al.** “Alcohols enhance the rate of acetic acid diffusion in *S. Cerevisiae*: biophysical mechanisms and implications for acetic acid tolerance”. *Microb cell* [en línea], 2022, (Sweden) 5(1), pp. 42-55. [Consulta: 06 noviembre 2022]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5772038/>

**LLIVISACA PALOMEQUE, Paul Andrés.** Elaboración de recetas de cocina experimental con base en Kombucha de: ajo negro (*Allium cepa*), cacao (*Theobroma cacao*), hoja de higo (*Ficus carica*) y suero de leche [En línea] (Trabajo de titulación). (Pregrado) Universidad de Cuenca, Cuenca, Ecuador. 2021. pp. 24-35. [Consulta: 18 marzo 2022]. Disponible en: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/36325/1/Trabajo%20de%20Titulaci%C3%B3n.pdf>

**LÓPEZ MARTÍNEZ, Carlos Raúl.** Atributos nutricionales, nutraceuticos y citotóxicos de tres especies de Anonáceas: Guanábana (*Annona muricata* L.), Chirimoya (*Annona cherimola* Mill.) y Chincuya (*Annona purpurea* Moc. Et Sess) [En línea] (Trabajo de titulación). (Doctoral) Universidad Autónoma Chapingo, México. 2021. p. 66-68. [Consulta: 20 marzo 2022]. Disponible en: [https://repositorio.chapingo.edu.mx/bitstream/handle/20.500.12098/1090/dch\\_lmcr-](https://repositorio.chapingo.edu.mx/bitstream/handle/20.500.12098/1090/dch_lmcr-)

21.pdf?sequence=2&isAllowed=y

**MARTÍNEZ FLORES, S.; et al.** “Los Flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes”. *Nutrición Hospitalaria* [en línea], 2002, (España) 17(6), pp. 271-272. [Consulta: 20 marzo 2022]. ISSN 0212-1611. Disponible en: <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/3338.pdf>

**MARTÍNEZ LEAL, Jessica; et al.** “A Review on health benefits of Kombucha nutritional compounds and metabolites”. *CYTA- Journal of Food* [en línea], 2018, 16(1), pp. 390-399. [Consulta: 02 septiembre 2022]. ISSN 1947-6337. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1410499>

**MCINTYRE, Lorena; & JANG, Sik.** “A study of alcohol levels in Kombucha products in British Columbia”. *Environmental Health Services, BC Centre for Disease Control, Vancouver, BC* [en línea], 2020, (British Columbia) 1, pp. 4-14. [Consulta: 26 agosto 2022]. Disponible en: <http://www.bccdc.ca/resource-gallery/Documents/Educational%20Materials/EH/FPS/Food/Kombucha%20report%202020.pdf>

**MOJTABA MOUSAVI, Seyyed; et al.** “Recent Progress in Chemical Composition, Production, and Pharmaceutical Effects of Kombucha Beverage: A Complementary and Alternative Medicine”. *Evidence-Bases Complementary and Alternative Medicine* [en línea], 2020 (Iran), p. 2. [Consulta: 18 abril 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2020/4397543>

**MORALES CHICAIZA, Lorena Elizabeth.** Desarrollo, Elaboración y Optimización Bromatológica de una bebida de Té negro fermentada a base de *Manchuria fungus* (Kombucha) y Evaluación de su actividad como potencial alimento funcional [En línea] (Trabajo de titulación). (Pregrado) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador. 2014. pp. 41-115. [Consulta: 19 marzo 2022]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/3918/1/56T00513%20UDCTFC.pdf>

**MORENO, Elizabeth; et al.** “Contenido total de fenoles y actividad antioxidante de pulpa de seis frutas tropicales”. *Revista Colombiana de Química* [en línea], 2015, (Colombia) 43(3), pp. 41-48. [Consulta: 20 marzo 2022]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v43n3.53615>

**MUZAIFA, M.; et al.** “Kombucha Fermentation from cascara with Addition of Red Dragon Fruit (*Hylocereus polyrizus*): Analysis of alcohol Content and Total Soluble Solid”. *Advances in*

*Biological Sciences Research* [en línea], 2021, (Indonesia) 17, pp. 127-128. [Consulta: 24 Julio 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.2991/absr.k.220102.020>

**NEFFE SKOCINSKA, Katarzyna; et al.** “Acid contents and the effect of Fermentation condition of kombucha tea beverages on physicochemical, microbiological and Sensory properties”. *CyTA – Journal of Food* [en línea], 2017, (Poland) 15(4), pp. 601-607. [Consulta: 26 agosto 2022]. ISSN 1947-6345. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1321588>

**NEVADO, Jose.** *Algunos mecanismos de acción de los probióticos* [en línea]. 2021. [Consulta: 17 abril 2022]. Disponible en: <https://www.nevadonutricion.com/2021/03/algunos-mecanismos-de-accion-de-los.html>

**NHS.** *Probiotics* [en línea]. 2018. [Consulta: 12 mayo 2022]. Disponible en: <https://www.nhs.uk/conditions/probiotics/>

**NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (NIH).** *Probiotics Fact Sheet for Consumers* [en línea]. 2022. [Consulta: 01 octubre 2022]. Disponible en: <https://ods.od.nih.gov/pdf/factsheets/Probiotics-Consumer.pdf>

**NTE INEN 1087, 1984.** *Bebidas Gaseosas. Determinación del pH.*

**NTE INEN 1091, 1984.** *Bebidas Gaseosas. Determinación de la Acidez Titulable.*

**NTE INEN 1101, 2017.** *Bebidas Gaseosas o Carbonatadas. Requisitos.*

**NTE INEN 1529-7, 1990.** *Control microbiológico de los Alimentos. Determinación de microorganismos Coliformes. Por la técnica de recuento de colonias.*

**NTE INEN 1529-8, 2016.** *Control microbiológico de los alimentos. Detección y recuento de Escherichia coli presuntiva por la técnica el número más probable.*

**NTE INEN 1529-10, 2013.** *Control microbiológico de los alimentos Mohos y Levaduras viables recuento en placa por siembra en profundidad.*

**NTE INEN 2395, 2011.** *Leches Fermentadas. Requisitos.*

**NYIEW, Ke Ying; et al.** “An overview of antimicrobial properties of Kombucha”. *Compr Rev Sci Food Saf* [en línea], 2022, (Malaysia) 21(2), pp. 1024-1053. [Consulta: 02 octubre 2022]. Disponible en: [10.1111/1541-4337.12892](https://doi.org/10.1111/1541-4337.12892)

**ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS).** *E. coli* [en línea]. 2018. [Consulta: 01 septiembre 2022]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>

**PARADA, Romina; et al.** “Cambios en la concentración de ácido fólico, fósforo libre y hierro soluble durante la fermentación de repollo blanco y repollo chino”. *Revista bionatura* [en línea], 2022, (Argentina), pp. 1-5. [Consulta: 05 noviembre 2022]. Disponible en: <http://revistabionatura.com/files/2022.07.02.3.pdf>

**PCC GROUP.** *Ácido acético: propiedades y aplicaciones únicas* [blog]. 2021. [Consulta: 19 marzo 2022]. Disponible en: <https://www.products.pcc.eu/es/blog/acido-acetico-propiedades-y-aplicaciones-unicas/>

**PENNSYLVANIA DEPARTMENT OF AGRICULTURE (PDA).** *Kombucha Brewing & Bottling Guidelines Hazard Concerns & Preventive Controls for Safety* [en línea]. 2017. [Consulta: 20 julio 2022]. Disponible en: [https://www.agriculture.pa.gov/consumer\\_protection/FoodSafety/manufacturing-packing-holding-distribution/Documents/Guidelines%20for%20brewing-bottling%20Kombucha.pdf](https://www.agriculture.pa.gov/consumer_protection/FoodSafety/manufacturing-packing-holding-distribution/Documents/Guidelines%20for%20brewing-bottling%20Kombucha.pdf)

**PEI, Jinjin; et al.** “Isolation, purification, and structural identification of a new bacteriocin made by *Lactobacillus plantarum* found in conventional Kombucha”. *Food Control* [en línea], 2020 (China) 110, p. 1. [Consulta: 26 septiembre 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106923>

**PEREYRA, Valeria; et al.** *Investigación sobre un hongo Ficticio* [en línea]. 2006. [Consulta: 20 Julio 2022]. Disponible en: <https://feeye.uncuyo.edu.ar/web/posjornadasinve/area3/Ciencias%20naturales%20y%20su%20didactica/156%20-%20Torres%20y%20otros%20-%20UN%20Tucuman.pdf>

**PHETXUMPHOU, Khaterine; et al.** “Processing Condition Effects on Sensory Profiles of Kombucha through Sensory Descriptive Analysis”. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* [en línea], 2021, (U.S.A), pp. 5-6. [Consulta: 24 septiembre 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/03610470.2021.2022879>

**PORTAL ACADÉMICO CCH.** *Fermentación láctica* [en línea]. 2017. [Consulta: 19 marzo 2022]. Disponible en: <https://e1.portalacademico.cch.unam.mx/alumno/biologia1/unidad2/fermentacion/lactica>

**PORTAL ACADÉMICO CCH.** *Fermentación alcohólica* [en línea]. 2017. [Consulta: 22 marzo 2022]. Disponible en: <https://e1.portalacademico.cch.unam.mx/alumno/biologia1/unidad2/fermentacion/alcoholica>

**QUIRÓNSALUD.** *Los probióticos y cómo te ayudarán a tener una buena salud* [blog]. 2021. [Consulta: 16 abril 2022]. Disponible en: <https://www.quironsalud.es/blogs/es/objetivo-peso-saludable/probioticos-ayudaran-tener-buena-salud>

**RAGAVAN, Mangala Lakshmi; & DAS, Nilanjana.** “Isolation and Characterization of Potential Probiotic Yeast From Different Sources”. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* [en línea], 2017, (India) 10(4), pp. 451-455. [Consulta: 03 octubre 2022]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.22159/ajpcr.2017.v10i4.17067>

**RAMOS RAMIREZ, E.; et al.** “Caracterización Química de Fracciones de Chirimoya (*Annona cherimola*) y Guanábana (*Annona muricata*). *Cinvestav-Zacatenco* [en línea], 2017, (México), p. 1. [Consulta: 17 Julio 2022]. Disponible en: [http://congresos.cio.mx/14\\_enc\\_mujer/cd\\_congreso/archivos/resumenes/S5/S5-BCA11.pdf](http://congresos.cio.mx/14_enc_mujer/cd_congreso/archivos/resumenes/S5/S5-BCA11.pdf)

**RASOULI, Latifeh; et al.** “Evaluation of cytotoxicity and anticancer activity of kombucha and dextrorubicin combination therapy on colorectal cancer cell line HCT-116”. *J Educ Health Promot* [en línea], 2021 (Iran) 10, p. 376. [Consulta: 20 marzo 2022]. Disponible en: [10.4103/jehp.jehp\\_1456\\_20](https://doi.org/10.4103/jehp.jehp_1456_20)

**REDZEPI, R.; & ZILBER, D.** *The Noma Guide To Fermentation* [en línea]. New York-USA: Artisan, 2018. [Consulta: 19 marzo 2022]

**RIQUERO LEÓN, Ricardo Arturo.** Industrialización del pepino dulce [En línea] (trabajo de titulación). (Pregrado) Universidad De Guayaquil, Guayaquil, Ecuador. 2015. p. 6. [Consulta: 12 mayo 2022]. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/8368/1/RIQUERO.pdf>

**ROBLES AEDO, Verónica.** Determinación de parámetros de fermentación para la producción de Kombucha utilizando una población mixta de microorganismos denominado fermento de té

[en línea] (trabajo de titulación). (Pregrado) Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac, Abancay, Perú. 2011. pp. 24-58. [Consulta: 12 mayo 2022]. Disponible en: [http://repositorio.unamba.edu.pe/bitstream/handle/UNAMBA/418/T\\_0029.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unamba.edu.pe/bitstream/handle/UNAMBA/418/T_0029.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

**RONDON, Liseth; et al.** “Probióticos: generalidades”. *Archivos Venezolanos de Puericultura y Pediatría* [en línea], 2015, (Venezuela) 78(4), p. 125. [Consulta: 18 marzo 2022]. Disponible en: <http://ve.scielo.org/pdf/avpp/v78n4/art06.pdf>

**ROSEND, Julia; et al.** “The effects of Apple variety, ripening stage, and yeast strain on the volatile composition of Apple cider”. *Heliyon* [en línea], 2019, (Estonia) 5(6), p. 1953. [Consulta: 24 septiembre 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01953>

**RUBIO DELGADO, Alfredo.** Te de Kombucha y sus Beneficios para el Sistema Digestivo [en línea] (Trabajo de titulación). (Maestría) Universidad Particular Equinoccial, Cuenca, Ecuador. 2007. p. 2-53. [Consulta: 19 marzo 2022]. Disponible en: <https://www.monografias.com/trabajos-pdf4/te-kombucha-y-salud/te-kombucha-y-salud.pdf>

**RUÍZ MARTÍNEZ, Rafael Chacón; et al.** “Scientific evidence for health effects attributed to the consumption of probiotics and prebiotics: an update for current perspectives and future challenges”. *British Journal of Nutrition* [en línea], 2015, (Brazil) 114(12), pp. 1993-2015. [Consulta: 12 mayo 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1017/S0007114515003864>

**SALAZAR, Blanca; & MONTOYA, Olga.** “Importancia de los Probióticos y Prebióticos en la Salud Humana”. *Vitae* [en línea], 2003, (Colombia) 10(2), p. 21. [Consulta: 18 marzo 2022]. ISSN 0121-4004. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1698/169817981002.pdf>

**SANTILLÁN MENDOZA, Ricardo; et al.** “Micotoxinas: ¿Qué son y cómo afectan la Salud Pública” *Revista Digital Universitaria* [en línea], 2017, (México) 18(6), pp. 1-11. [Consulta: 12 septiembre 2022]. ISSN 1607-6079. Disponible en: [https://www.revista.unam.mx/vol.18/num6/art46/PDF\\_art46.pdf](https://www.revista.unam.mx/vol.18/num6/art46/PDF_art46.pdf)

**SHAHBAZI, Hossein; et al.** “Effect of medicinal plant type and concentration on physicochemical, antioxidant, antimicrobial, and sensorial properties of kombucha”. *Food Science & Nutrition* [en línea], 2018, (Iran) 6(8), pp. 2568-2577. [Consulta: 28 septiembre 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/fsn3.873>

**SCHNEIDER, Ryley; et al.** “The Effects of Increasing Sucrose Concentrations on Yeast Grow” *Journal of Introductory Biology Investigations* [en línea], 2017, 7(3), p. 1. [Consulta: 02 noviembre 2022]. Disponible en: <https://undergradsciencejournals.okstate.edu/index.php/jibi/article/view/6153>

**SIICEX.** *Pepino dulce* [en línea]. 2014. [Consulta: 20 marzo 2022]. Disponible en: <https://www.siicex.gob.pe/siicex/resources/fichaproducto/156pdf2014Jul23.pdf>

**SHENOY, Chandrakala; et al.** “16 – Kombucha (Bio – Tea): an Elixir for Life?”. *Nutrients in beverages* [en línea], 2019, (India) 12, pp. 591-616. [Consulta: 20 marzo 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816842-4.00016-2>

**SONG, Sanfeng; et al.** *Recent Application of Probiotics in Food and Agricultural Science* [en línea]. Greensboro-USA: IntechOpen, 2012. [Consulta: 15 abril 2022]. Disponible en: <https://www.intechopen.com/chapters/39607>

**SOTIL FLORES, Hugo Daniel.** Análisis de indicadores de contaminación bacteriológica (Coliformes totales y Termotolerantes) en el lago de Morococha [En línea] (Trabajo de titulación). (Pregrado) Universidad Científica del Perú, San Juan, Perú. 2017. pp. 15-16. [Consulta: 02 marzo 2022]. Disponible en: <http://repositorio.ucp.edu.pe/bitstream/handle/UCP/274/SOTIL-1-Trabajo-An%C3%A1lisis.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

**SOUTHEY, Flora.** *How much do consumers Know about probiotics in food?* [en línea]. 2022. [Consulta: 12 mayo 2022]. Disponible en: <https://www.foodnavigator.com/Article/2022/02/28/How-much-do-consumers-know-about-probiotics-in-food>

**SPECIALTY FOODS.** *Crece el consumo global de bebidas fermentadas* [en línea]. 2018. [Consulta: 19 abril 2022]. Disponible en: [https://www.procomer.com/alertas\\_comerciales/crece-el-consumo-global-de-bebidas-fermentadas/](https://www.procomer.com/alertas_comerciales/crece-el-consumo-global-de-bebidas-fermentadas/)

**SREERAMULU, G.; et al.** “Kombucha Fermentation and its antimicrobial activity”. *Journal Agric. Food Chem* [en línea], 2000, 48(6), pp. 2589-2594. [Consulta: 20 marzo 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/jf991333m>

**STALOGOS.** *Prueba de Friedman: definición, fórmula y ejemplo* [en línea]. 2022. [Consulta: 24 septiembre 2022]. Disponible en: <https://statologos.com/prueba-friedman/>

**STEVENS, Neil.** *Kombucha: el té extraordinario* [en línea]. Barcelona-España: Sirio, S.A, 2003. [Consulta: 19 marzo 2022]. Disponible en: ISBN: 84-7808-200-X

**SUHARMAN; et al.** “Effects of Sucrose Addition to Lactic Acid Concentrations and Lactic Acid Bacteria Population of Butterfly Pea (*Clitoria ternatea* L.) Yogurt”. *Journal of Physics: Conference Series* [en línea], 2021, (Indonesia) 6(8), pp. 3-4. [Consulta: 02 noviembre 2022]. Disponible en: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1742-6596/1823/1/012038/pdf>

**TAPIA ALVARADO, Dayana Tairy.** Determinación de la actividad antioxidante de una bebida a base de pepino dulce (*Solanum muricatum* Aiton) y Durazno (*Prunus pérsica* L. Batsch) [En línea] (Trabajo de titulación). (Pregrado) Universidad Agraria del Ecuador, Guayaquil, Ecuador. 2021. p. 30. [Consulta: 20 marzo 2022]. Disponible en: <http://181.198.35.98/Archivos/TAPIA%20ALVARADO%20DAYANA%20TAIRY.pdf>

**TORRES GUARDADO, Francisco Rafael.** Estudios de las interacciones bacterias ácido-lácticas, levaduras en fermentación para la elaboración de una bebida alcohólica [En línea] (Trabajo de titulación). (Pregrado) Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C, Jalisco, México. 2017. pp. 18-51. [Consulta: 15 septiembre 2022]. Disponible en: <https://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1023/591/1/Francisco%20Rafael%20Torres%20Guardado.pdf>

**TRAN, Thierry; et al.** “Microbial Dynamics between Yeast and Acetic Acid Bacteria in Kombucha: Impacts on the Chemical Composition of the Beverage”. *Foods* [en línea], 2020, (France) 9, p. 963. [Consulta: 15 septiembre 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/foods9070963>

**TREVIÑO, M.; et al.** “Efecto de la concentración de dextrosa en la producción de películas de celulosa microbiana a partir de Kombucha y té verde”. *Investigación y Desarrollo en Ciencias y Tecnología de Alimentos* [en línea], 2020, (Colombia) 5, pp.119-123. [Consulta: 24 Julio 2022]. Disponible en: <http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume5/5/2/24.pdf>

**TROITINO, Cristina.** *Kombucha 101: Demystifying The Past, Present And Future Of The Fermented Tea Drink* [en línea]. 2017. [Consulta: 18 marzo 2022]. Disponible en: <https://www.forbes.com/sites/christinatroitino/2017/02/01/kombucha-101-demystifying-the-past-present-and-future-of-the-fermented-tea-drink/?sh=12de79cd4ae2>

**TUORILA, Hely.** “Consumer Responses to an Off-Flavor in Juice in the Presence of Specific Health Claims”. *Food Quality and Preference* [en línea], 2002, (United State of America) 13(7), pp. 561-569. Disponible en: 10.1016/S0950-3293(01)00076-3

**VALIYAN, Fateme; et al.** “Use of Response Surface methodology to investigate the effect of several fermentation conditions on the antibacterial activity of several Kombucha beverages”. *Journal of Food Science and Technology* [en línea], 2021, (Iran) 58(5), pp. 1877-1891. Disponible en: 10.1007/s13197-020-04699-6

**VALLEJO VALENZUELA, Francisco Vicente.** Los cultivos exóticos como alternativa a hortícolas en invernadero: *Solanum muricatum* [En línea] (Trabajo de titulación). (Pregrado) Universidad de Almería, Almería, España. 2015. p. 4. [Consulta: 20 marzo 2022]. Disponible en: [http://repositorio.ual.es/bitstream/handle/10835/6552/15984\\_TFG%20Francisco%20Vallejo.pdf?sequence=1&isAllo wed=y](http://repositorio.ual.es/bitstream/handle/10835/6552/15984_TFG%20Francisco%20Vallejo.pdf?sequence=1&isAllo wed=y)

**VARGAS MORA, Francisco Javier.** Elaboración de una Bebida refrescante fermentando la simbiosis de kombucha con el objeto de mejorar la calidad de vida de los consumidores de bebidas no alcohólicas [En línea] (Trabajo de titulación). (Pregrado) Universidad Técnica de Ambato, Ambato, Ecuador. 2011. p. 1-93. [Consulta: 20 marzo 2022]. Disponible en: <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/1759/1/SBQ5%20Ref3399.pdf>

**VÁZQUEZ, H.; & DACOSTA, O.** “Fermentación alcohólica: Una opción para la producción de energía renovable a partir de desechos agrícolas”. *Ingeniería, investigación y tecnología* [en línea], 2007, (México) 8(4), pp. 252-253. [Consulta: 19 marzo 2022]. ISSN 1405-7743. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/iit/v8n4/v8n4a4.pdf>

**VERA, Genesis.** *Pepino dulce, exquisita fruta refrescante e hidratante* [en línea]. 2017. [Consulta: 20 marzo 2022]. Disponible en: <https://www.cocinayvino.com/vida-saludable/alimentacion-salud/beneficios-del-pepino-dulce/>

**VILLAMARIN PLUAS, Dalton Alexander.** Estudio Taxonómico de Chirimoya (*Annona cherimola* Mill.) en la isla Puná, Provincia del Guayas [En línea] (trabajo de titulación). (Pregrado) Universidad Agraria del Ecuador, Guayaquil, Ecuador. 2020. p. 22. [Consulta: 01 octubre 2022]. Disponible en: <https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/VILLAMARIN%20PLUAS%20DALTON%20ALEXANDER.pdf>

**VILLAMAR MOTA, Michelle Andrea.** Evaluación de la Capacidad Antioxidante y conteo de Probióticos de una bebida Kombucha (*Manchurian fungus*) Elaborado con Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) [En línea] (trabajo de titulación). (Pregrado) Universidad Agraria del Ecuador, Guayaquil, Ecuador. 2021. pp. 19-73. [Consulta: 12 mayo 2022]. Disponible en: <https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/VILLAMAR%20MOTA%20MICHELLE%20ANDREA.pdf>

**VILLARREAL SOTO, Silvia; et al.** “Understanding Kombucha Tea Fermentation: A Review”. *Journal of Food Science* [en línea], 2018, (United States of America) 83(3), pp. 580-588. [Consulta: 19 marzo 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14068>

**VILLARREAL SOTO, Silva Alejandro; et al.** “Impact of Fermentation conditions on the production of bioactive compounds with anticancer, anti-inflammatory and antioxidant properties in Kombucha tea extracts”. *Process Biochemistry* [en línea], 2019, (France) 83, pp. 44-54. [Consulta: 26 agosto 2022]. ISSN 1359-5113. Disponible en: [https://oatao.univ-toulouse.fr/24238/1/Villarreal\\_24230.pdf](https://oatao.univ-toulouse.fr/24238/1/Villarreal_24230.pdf)

**WANG, Chung-Yi; et al.** “Probiotic potential of noni juice fermented with lactic acid bacteria and bifidobacteria”. *Int J Food Sci Nutr* [en línea], 2009, (Taiwan), pp. 98-106. [Consulta: 16 abril 2022]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19340670/>

**WEI, Jianping; et al.** “Characterization and screening of non-*Saccharomyces* yeasts used to produce fragrant cider”. *LWT* [en línea], 2021, (China) 107, pp. 191-198. [Consulta: 24 septiembre 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.03.028>

**WU, Meishan; & BROWN, Angela.** “Applications of Catechins in the Treatment of Bacterial Infections”. *Pathogens* [en línea], 2021, (USA) 10(5), pp. 2-3. [Consulta: 02 septiembre 2022]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8147231/pdf/pathogens-10-00546.pdf>

**YABALAN, R.; et al.** “Changes in content of organic acids and tea polyphenols during Kombucha tea Fermentation”. *Food Chemistry* [en línea], 2007, (India) 102(1), pp. 391-393. [Consulta: 19 marzo 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.05.032>

**YAGUANA UDAY, Fernanda Patricia.** Caracterización morfológica de poblaciones nativas de chirimoya (*Annona cherimola* Mill.) con fines de aprovechamiento en la provincia de Loja [En línea] (trabajo de titulación). (Pregrado) Universidad Nacional de Loja, Loja, Ecuador. 2018. pp. 37-41. [Consulta: 05 noviembre 2022]. Disponible en: <https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/20970/1/TESIS%20CARACTERIZACI%C3%93N%20MORFOL%C3%93GICA%20DE%20POBLACIONES%20NATIVAS%20DE%20CHIRIMOYA%20%28Annona%20cherimola%20Mill.%29%20CON%20FINES%20DE%20APROVECHAMIENTO%20EN%20LA%20PROVINCIA%20DE%20LOJA.pdf>

**YANG, Jieping; et al.** “Microbial and Chemical Profiles of Commercial Kombucha Products”. *Nutrient* [en línea], 2022, (Turkey) 7(9), p. 670. [Consulta: 19 Julio 2022]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8838605/pdf/nutrients-14-00670.pdf>

**YIKMIS, Seydi; & TUGGUM, Sergen.** “Evaluation of Microbiological, Physicochemical and Sensorial Properties of Purple Basil Kombucha Beverage”. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology* [en línea], 2019, (U.S.A) 14, pp. 1321-1327. [Consulta: 10 septiembre 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.24925/turjaf.v7i9.1321-1327.2550>

**YOU BREW KOBUCHA.** *Guide To Kombucha pH* [en línea]. 2017. [Consulta: 23 abril 2022]. Disponible en: <https://www.youbrewkombucha.com/kombucha-ph>

**ZANIN, Tatiana.** *Qué es la Kombucha, para qué sirve y cómo prepararla* [En línea]. 2022. [Consulta: 18 marzo 2022]. Disponible en: <https://www.tuasaude.com/es/beneficios-de-la-kombucha/>

**ZHAO, Zhen Jun; et al.** “Flavor chemical dynamics during Fermentation of Kombucha tea”. *Emirates Journal of Food & Agriculture* [en línea], 2018, (China) 30(9), pp. 732-741. [Consulta: 18 marzo 2022]. Disponible en: <https://ejfa.me/index.php/journal/article/view/1794/1148>

**ZHANG, Wen; et al.** “Isolation and Identification of a bacterial cellulose synthesizing strain from Kombucha in different conditions: *Gluconacetobacter xylinus* ZHCJ618”. *Food Science and Biotechnology* [en línea], 2018, (China) 27, pp. 705-713. [Consulta: 24 septiembre 2022].

Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10068-018-0303-7>

**ZISCA, R.; et al.** “Cytotoxic Activity Assay of N-Hexane Extract of *Solanum nigrum* L. Fruits Fermented by Kombucha against MCF-7 Breast Cancer Cell Line”. *Journal of Physics: Conference Series* [en línea], 2019, (Indonesia) 1338, pp. 1-10. [Consulta: 20 marzo 2022]. Disponible en: 10.1088/1742-6596/1338/1/012027

**ZUBAIDAH, E.; et al.** “Changes in chemical characteristics of Kombucha from various cultivars of snake fruit during Fermentation”. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* [en línea], 2019, (Indonesia) 230, pp. 1-3. [Consulta: 24 Julio 2022]. Disponible en: 10.1088/1755-1315/230/1/012098

**ZUBAIDAH, E.; et al.** “Characteristic of microbiological, chemical, and antibacterial activity of turmeric (*Curcuma longa*) kombucha”. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* [en línea], 2021, (Indonesia) 924, pp. 1-8. [Consulta: 28 septiembre 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/924/1/012080>

**ZUBAIDAH, E.; et al.** “Characteristic of physical, chemical, and microbiological kombucha from various varieties of apples”. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* [en línea], 2018, (Indonesia) 131, pp. 6-7. [Consulta: 24 septiembre 2022]. Disponible en: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/131/1/012040/pd>



DIRECCION DE BIBLIOTECAS  
Y RECURSOS PARA EL APRENDIZAJE  
Y LA INVESTIGACION  
Ing. Jhonatan Parreño Uquillas MBA  
DBRAT ANALISTA DE BIBLIOTECA 1

## ANEXOS

### ANEXO A: FICHA DE PRUEBA AFECTIVA DE ESCALA HEDÓNICA

**NOMBRE:**

**FECHA:**

#### INSTRUCCIONES

Frente a usted se presentan 4 muestras diferentes de Bebida Probiótica. Por favor, observe y pruebe cada una de ellas, empezando de izquierda a derecha. Indique el grado en que le gusta o disgusta cada una de las muestras, de acuerdo con el puntaje/categoría, escriba el número correspondiente en la línea del código de la muestra.

**Nota:** Recuerda hacer el uso del borrador (Agua) despues de probar cada una de las muestras.

<b>PUNTAJE</b>	<b>CATEGORÍA</b>
<b>1</b>	Me disgusta extremadamente
<b>2</b>	Me disgusta poco
<b>3</b>	No me gusta ni me disgusta
<b>4</b>	Me gusta poco
<b>5</b>	Me gusta extremadamente

<b>Código</b>	<b>Calificación para cada atributo</b>			
	<b>Olor</b>	<b>color</b>	<b>sabor</b>	<b>Apariencia</b>

**ANEXO B: RESULTADOS FISICOQUÍMICOS DE LA BEBIDA PROBIÓTICA  
ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CHIRIMOYA**

- Inicio de la fermentación

<b>Inicio de Fermentación</b>				
<b>Niveles de pulpa de chirimoya (%)</b>	<b>Repeticiones</b>	<b>Acidez (g/100ml ácido acético)</b>	<b>Sólidos Solubles (°Brix)</b>	<b>pH</b>
0	R1	0,11	3	4,6
0	R2	0,1	3	4,3
0	R3	0,11	3	4,6
0	R4	0,11	3	4,6
5	R1	0,12	3,25	4,8
5	R2	0,11	3,25	4,8
5	R3	0,12	3	4,8
5	R4	0,12	3,25	4,8
10	R1	0,08	4	4,9
10	R2	0,09	4	4,9
10	R3	0,08	4	4,9
10	R4	0,09	4	4,9
15	R1	0,1	5	5
15	R2	0,11	4,75	5
15	R3	0,11	5	5
15	R4	0,11	4,75	5

- 8 días de fermentación

<b>8 días de Fermentación</b>							
<b>Tratamientos</b>	<b>Repeticiones</b>	<b>pH</b>	<b>Acidez (g/100ml ácido acético)</b>	<b>Sólidos Solubles (°Brix)</b>	<b>Sólidos Solubles (°Brix) Ajustado</b>	<b>% Alcohol</b>	<b>% Alcohol ajustado</b>
T0	R1	4	0,21	1	1,00	0,21	0,45
T0	R2	4,1	0,18	1	1,00	0,37	0,61
T0	R3	4	0,21	1	1,00	0,14	0,38
T0	R4	4,1	0,22	2,3	1,52	0,26	0,51
T1	R1	4,1	0,3	2	1,41	0,30	0,55
T1	R2	3,9	0,27	2	1,41	0,33	0,58
T1	R3	4	0,29	2	1,41	0,61	0,78
T1	R4	4	0,29	2	1,41	0,45	0,67
T2	R1	4	0,34	2	1,41	1,20	1,10
T2	R2	4	0,27	2	1,41	1,60	1,27
T2	R3	4	0,3	2	1,41	1,30	1,14
T2	R4	4,1	0,3	2	1,41	1,15	1,07
T3	R1	4	0,39	3	1,73	0,83	0,91
T3	R2	4	0,39	2,5	1,58	0,96	0,98
T3	R3	4	0,34	2,5	1,58	1,36	1,17
T3	R4	4	0,35	2,5	1,58	1,03	1,02

**ANEXO C: ESTADÍSTICO, pH DE LA BEBIDA PROBIÓTICA ELABORADA CON  
DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CHIRIMOYA**

- Inicio de fermentación

**A. Resultados experimentales**

Niveles de pulpa de chirimoya (%)	Repeticiones				Suma	Media
	I	II	III	IV		
0	4,6	4,3	4,6	4,6	18,1	4,53
5	4,8	4,8	4,8	4,8	19,2	4,80
10	4,9	4,9	4,9	4,9	19,6	4,90
15	5,0	5,0	5,0	5,0	20	5,00
Promedio						4,80625
Coeficiente de variación (C.V.)						1,56

**B. Análisis de varianza (ADEVA)**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
Niveles de Pulpa de chirimoya	0,50188	3	0,16729	29,74074	<0,0001
Error	0,0675	12	0,00563		
Total	0,56938	15			

$P \leq 0,01$ : Presenta diferencias altamente significativas

**C. Prueba de separación de medias (TUKEY = 0,05)**

Niveles de pulpa de chirimoya (%)	Medias	n	E.E.	Rango
15	5,00	4	0,0375	A
10	4,90	4	0,0375	AB
5	4,80	4	0,0375	B
0	4,53	4	0,0375	C

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

- 8 días de fermentación

#### A. Resultados experimentales

Niveles de pulpa de chirimoya (%)	Repeticiones				Suma	Media
	I	II	III	IV		
0	4,0	4,1	4,0	4,1	16,2	4,05
5	4,1	3,9	4,0	4,0	16	4,00
10	4,0	4,0	4,0	4,1	16,1	4,03
15	4,0	4,0	4,0	4,0	16	4,00
Promedio						4,01875
Coeficiente de variación (C.V.)						1,391

#### B. Análisis De varianza (ADEVA)

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
Niveles de pulpa de chirimoya	0,01	3	0,002	0,73	0,5519
Error	0,04	12	0,003		
Total	0,04	15			

$P > 0,05$ : No Presenta diferencias altamente significativas

#### C. Prueba de separación de medias (TUKEY = 0,05)

Niveles de pulpa de chirimoya (%)	Medias	n	E.E.	Rango
0	4,05	4	0,03	A
10	4,03	4	0,03	A
15	4,00	4	0,03	A
5	4,00	4	0,03	A

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

**ANEXO D: ESTADÍSTICO, ACIDEZ DE LA BEBIDA PROBIÓTICA ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CHIRIMOYA**

- Inicio de fermentación

**A. Resultados experimentales**

Niveles de pulpa de chirimoya (%)	Repeticiones				Suma	Media
	I	II	III	IV		
0	0,11	0,1	0,11	0,11	0,43	0,11
5	0,12	0,11	0,12	0,12	0,47	0,12
10	0,08	0,09	0,08	0,09	0,34	0,09
15	0,1	0,11	0,11	0,11	0,43	0,11
Promedio						0,10
Coeficiente de variación (C.V.)						4,99

**B. Análisis de varianza (ADEVA)**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
Niveles de pulpa de chirimoya	0,002	3	0,0008	27,92	<0,0001
Error	0,000	12	0,00003		
Total	0,003	15			

$P \leq 0,01$ : Presenta diferencias altamente significativas

**C. Prueba de separación de medias (TUKEY = 0,05)**

Niveles de Pulpa de Chirimoya (%)	Medias	n	E.E.	Rango
0,5	0,12	4	0,003	A
0	0,11	4	0,003	A
15	0,11	4	0,003	A
10	0,09	4	0,003	B

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

- 8 días de fermentación

#### A. Resultados experimentales

Niveles de pulpa de chirimoya (%)	Repeticiones				Suma	Media
	I	II	III	IV		
0	0,21	0,18	0,21	0,22	0,82	0,21
5	0,3	0,27	0,29	0,29	1,15	0,29
10	0,34	0,27	0,3	0,3	1,21	0,30
15	0,39	0,39	0,34	0,35	1,47	0,37
Promedio						0,29
Coeficiente de variación (C.V.)						7,65

#### B. Análisis de varianza (ADEVA)

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
Niveles de pulpa de chirimoya	0,05	3	0,02	36,16	<0,0001
Error	0,01	12	0,00		
Total	0,06	15			

$P \leq 0,01$ : Presenta diferencias altamente significativas

#### C. Prueba de separación de medias (TUKEY = 0,05)

Niveles de pulpa de chirimoya (%)	Medias	n	E.E.	Rango
15	0,37	4	0,01	A
10	0,30	4	0,01	B
5	0,29	4	0,01	B
0	0,21	4	0,01	C

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

**ANEXO E: ESTADÍSTICO, SÓLIDOS SOLUBLES DE LA BEBIDA PROBIÓTICA  
ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CHIRIMOYA**

- Inicio de la fermentación

**A. Resultados Experimentales**

Niveles de pulpa de chirimoya (%)	Repeticiones				Suma	Media	
	I	II	III	IV			
0	3	3	3	3	12	3,00	
5	3,25	3,25	3	3,25	12,75	3,19	
10	4	4	4	4	16	4,00	
15	5	4,75	5	4,75	19,5	4,88	
Promedio							3,77
Coeficiente de variación (C.V.)							2,54

**B. Análisis de varianza (ADEVA)**

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
Niveles de pulpa de chirimoya	8,82	3	2,94	322,71	<0,0001
Error	0,11	12	0,01		
Total	8,93	15			

$P \leq 0,01$ : Presenta diferencias altamente significativas

**C. Prueba de separación de medias (TUKEY = 0,05)**

Niveles de pulpa de Chirimoya (%)	Medias	n	E.E.	Rango
15	4,88	4	0,05	A
10	4,00	4	0,05	B
5	3,19	4	0,05	C
0	3,00	4	0,05	C

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

- 8 días de fermentación

#### A. Resultados experimentales

Niveles de pulpa de chirimoya (%)	Repeticiones				Suma	Media
	I	II	III	IV		
0	1	1	1	2,3	5,3	1,33
5	2	2	2	2	8	2,00
10	2	2	2	2	8	2,00
15	3	2,5	2,5	2,5	10,5	2,63
Promedio						1,99
Coeficiente de variación (C.V.)						17,52

#### B. Valores ajustados mediante raíz cuadrada

Niveles de pulpa de Chirimoya (%)	Repeticiones				Suma	Media
	I	II	III	IV		
0	1,00	1,00	1,00	1,52	4,52	1,13
5	1,41	1,41	1,41	1,41	5,66	1,41
10	1,41	1,41	1,41	1,41	5,66	1,41
15	1,73	1,58	1,58	1,58	6,48	1,62
Promedio						1,39
Coeficiente de variación (C.V.)						9,72

#### C. Análisis de varianza (ADEVA)

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
Niveles de pulpa de chirimoya	3,38	3	1,13	9,30	0,0019
Error	1,46	12	0,12		
Total	4,84	15			

$P \leq 0,01$ : Presenta diferencias altamente significativas

D. Prueba de separación de medias (TUKEY = 0,05)

Niveles de pulpa de chirimoya (%)	Medias	Medias ajustadas	n	E.E.	Rango
15	2,63	1,62	4	0,17	A
10	2,00	1,41	4	0,17	AB
5	2,00	1,41	4	0,17	AB
0	1,33	1,13	4	0,17	B

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

**ANEXO F: ESTADÍSTICO, % ALCOHOL DE LA BEBIDA PROBIÓTICA ELABORADA  
CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CHIRIMOYA**

- 8 días de fermentación

A. Resultados experimentales

Niveles de pulpa de chirimoya (%)	Repeticiones				Suma	Media
	I	II	III	IV		
0	0,21	0,37	0,14	0,26	0,98	0,25
5	0,3	0,33	0,61	0,45	1,69	0,42
10	1,2	1,6	1,3	1,15	5,25	1,31
15	0,83	0,96	1,36	1,03	4,18	1,05
Promedio						0,76
Coeficiente de variación (C.V.)						22,98

B. Valores ajustados por raíz cuadrada

Niveles de pulpa de Chirimoya (%)	Repeticiones				Suma	Media
	I	II	III	IV		
0	0,45	0,61	0,38	0,51	1,95	0,49
5	0,55	0,58	0,78	0,67	2,58	0,65
10	1,10	1,27	1,14	1,07	4,57	1,14
15	0,91	0,98	1,17	1,02	4,07	1,02
Promedio						0,82
Coeficiente de variación (C.V.)						12,13

C. Análisis de varianza (ADEVA)

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
Niveles de pulpa de chirimoya	3,06	3	1,021	33,80	<0,0001
Error	0,36	12	0,030		
Total	3,42	15			

$P \leq 0,01$ : Presenta diferencias altamente significativas

D. Prueba de separación de Medias (TUKEY = 0,05)

Niveles de pulpa de chirimoya (%)	Medias	n	E.E.	Rango
10	1,31	4	0,09	A
15	1,05	4	0,09	A
5	0,42	4	0,09	B
0	0,25	4	0,09	B

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

**ANEXO G: ESTADÍSTICO, BACTERIAS PROBIÓTICAS EN LA BEBIDA FUNCIONAL ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CHIRIMOYA**

- 8 días de fermentación

A. Resultados experimentales

Niveles de pulpa de chirimoya (%)	Repeticiones				Suma	Media
	I	II	III	IV		
0	1470	2290	1660	2660	8080	2020
5	17400	42000	24000	150000	233400	58350
10	63000	63000	100000	110000	336000	84000
15	6200000	8000000	50000000	93000000	213000000	53250000
Promedio						13348592,5
Coeficiente de variación (C.V.)						131,81

B. Análisis de varianza (ADEVA)

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
Niveles de pulpa de chirimoya	8,49X10 <sup>15</sup>	3	2,83X10 <sup>15</sup>	9,14	0,002
Error	3,71X10 <sup>15</sup>	12	3,09X10 <sup>14</sup>		
Total	1,22X10 <sup>16</sup>	15			

P≤0,01: Presenta diferencias altamente significativas

C. Prueba de separación de Medias (TUKEY = 0,05)

Niveles de Pulpa de Chirimoya (%)	Medias	n	E.E.	Rango
15	53250000	4	8797209,95	A
10	84000	4	8797209,95	B
5	58350	4	8797209,95	B
0	2020	4	8797209,95	B

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

**ANEXO H: ESTADÍSTICO, LEVADURAS DE LA BEBIDA PROBIÓTICA ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CHIRIMOYA**

- 8 días de fermentación

A. Resultados experimentales

Niveles de pulpa de chirimoya (%)	Repeticiones				Suma	Media
	I	II	III	IV		
0	1000000	4500000	6000000	21000000	32500000	8125000
5	110000000	92000000	1000000	19000000	222000000	55500000
10	2000000	140000000	84000000	1000000000	1226000000	306500000
15	2400000000	130000000	2000000000	910000000	5440000000	1360000000
Promedio						432531250
Coeficiente de variación (C.V.)						131,23

B. Análisis de varianza (ADEVA)

F.V	SC	gl	CM	F	p-valor
Niveles de pulpa de chirimoya	4,79X10 <sup>18</sup>	3	1,60X10 <sup>18</sup>	4,96	0,0182
Error	3,87X10 <sup>18</sup>	12	3,22X10 <sup>17</sup>		
Total	8,66X10 <sup>18</sup>	15			

$P \leq 0,05$ : Presenta diferencias significativas

C. Prueba de separación de medias (TUKEY = 0,05)

Niveles de pulpa de chirimoya (%)	Medias	n	E.E.	Rango
15	136000000	4	283810756,6	A
10	306500000	4	283810756,6	AB
5	55500000	4	283810756,6	B
0	8125000	4	283810756,6	B

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

**ANEXO I: RESULTADOS DE LA VALORACIÓN SENSORIAL EN LA BEBIDA  
ELABORADA DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CHIRIMOYA**

CATADOR	OLOR				COLOR				SABOR				APARIENCIA			
	T0	T1	T2	T3	T0	T1	T2	T3	T0	T1	T2	T3	T0	T1	T2	T3
1	5	4	4	3	2	4	3	2	2	3	5	3	4	3	2	4
2	2	3	3	3	3	4	4	1	3	2	1	1	3	3	3	1
3	4	3	2	4	4	3	3	3	3	3	2	2	3	3	3	3
4	2	3	2	4	4	4	4	5	2	3	1	4	4	4	3	5
5	3	4	5	4	3	4	5	4	2	4	3	1	3	3	5	2
6	3	4	4	2	3	3	3	3	2	1	2	1	3	3	2	2
7	5	4	4	5	4	4	4	5	4	3	3	5	4	4	4	5
8	2	4	4	4	3	3	4	4	1	2	3	1	3	3	4	3
9	1	2	4	5	3	4	5	4	2	3	4	5	3	3	5	4
10	2	4	4	4	3	4	5	3	4	5	3	4	3	4	4	4
11	1	2	3	4	3	3	4	4	2	4	3	4	3	4	4	4
12	3	5	4	2	4	4	4	3	2	4	4	3	4	4	4	3
13	3	4	2	2	5	4	2	2	5	4	2	3	5	4	2	2
14	3	4	5	4	4	4	5	4	2	3	2	1	4	5	5	3
15	3	2	4	3	2	2	3	2	2	3	3	4	3	3	2	1
16	3	2	4	2	3	3	4	4	4	3	3	4	3	2	3	1
17	3	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	4	3	3	4	4
18	4	4	2	2	4	4	4	4	2	1	2	1	4	4	4	4
19	2	2	2	3	3	2	3	2	2	2	1	2	3	2	2	2
20	3	2	2	3	4	3	2	3	1	1	1	2	4	3	3	3
21	2	4	1	3	3	2	3	3	2	3	1	5	3	4	2	5
22	3	3	4	2	4	2	3	4	2	4	2	4	3	3	2	4
23	3	3	3	5	4	4	4	5	3	3	2	5	4	3	3	5
24	3	4	3	4	3	3	4	3	3	4	2	2	3	4	3	3
25	3	4	4	4	3	3	3	3	4	3	3	3	3	4	4	4

**ANEXO J: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL OLOR DE LA BEBIDA PROBIÓTICA  
ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CHIRIMOYA**

A. Estadística descriptiva del atributo sensorial “olor” de la bebida probiótica

Tratamiento	Variable	n	Media	D.E.	Mínimo	Máximo
T0	Olor	25	2,84	0,99	1,00	5,00
T1	Olor	25	3,36	0,91	2,00	5,00
T2	Olor	25	3,32	1,07	1,00	5,00
T3	Olor	25	3,40	1,00	2,00	5,00

B. Prueba no paramétrica de Friedman en el atributo sensorial de olor

Tratamiento	Suma (Ranks)	Media (Ranks)	n	p
T0	51,00	2,04	25	0,1487
T2	65,00	2,60	25	
T1	66,00	2,64	25	
T3	68,00	2,72	25	

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,050$ )

**ANEXO K: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL COLOR DE LA BEBIDA PROBIÓTICA DE LA  
ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CHIRIMOYA**

A. Estadística descriptiva del atributo sensorial “color” de la bebida a probiótica

Tratamiento	Variable	n	Media	D.E.	Mínimo	Máximo
T0	Color	25	3,40	0,71	2,00	5,00
T1	Color	25	3,36	0,76	2,00	4,00
T2	Color	25	3,68	0,85	2,00	5,00
T3	Color	25	3,36	1,04	1,00	5,00

B. Prueba no paramétrica de Friedman en el atributo sensorial de color

Tratamiento	Suma (Ranks)	Media (Ranks)	n	p
T1	56,00	2,24	25	0,0911
T0	58,50	2,34	25	
T3	62,50	2,50	25	
T2	73,00	2,92	25	

**ANEXO L: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL SABOR DE LA BEBIDA PROBIÓTICA  
ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CHIRIMOYA**

A. Estadística descriptiva del atributo sensorial “sabor” de la bebida a probiótica

Tratamiento	Variable	n	Media	D.E.	Mínimo	Máximo
T0	Sabor	25	2,60	1,04	1,00	5,00
T1	Sabor	25	2,96	1,02	1,00	5,00
T2	Sabor	25	2,44	1,04	1,00	5,00
T3	Sabor	25	2,96	1,46	1,00	5,00

B. Prueba no paramétrica de Friedman en el atributo sensorial de sabor

Tratamiento	Suma (Ranks)	Media (Ranks)	n	p
T2	52,00	2,08	25	0,1852
T0	62,00	2,48	25	
T3	67,00	2,68	25	
T1	69,00	2,76	25	

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,050$ )

**ANEXO M: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA APARIENCIA DE LA BEBIDA  
ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CHIRIMOYA**

A. Estadística descriptiva del atributo sensorial “apariencia” de la bebida a probiótica

Tratamiento	Variable	n	Media	D.E.	Mínimo	Máximo
T0	Apariencia	25	3,40	0,58	3,00	5,00
T1	Apariencia	25	3,40	0,71	2,00	5,00
T2	Apariencia	25	3,28	1,02	2,00	5,00
T3	Apariencia	25	3,24	1,27	1,00	5,00

B. Prueba no paramétrica de Friedman en el atributo sensorial de apariencia

Tratamiento	Suma (Ranks)	Media (Ranks)	n	p
T2	61,00	2,44	25	0,9574
T3	61,00	2,44	25	
T0	63,50	2,54	25	
T1	64,50	2,58	25	

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,050$ )

**ANEXO N: ELABORACIÓN DE LA BEBIDA PROBIÓTICA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CHIRIMOYA**



Materia prima (chirimoya y pepino dulce)



Limpieza y desinfección del recipiente



Infusión de té



Pelado, lavado y pesado de la fruta



Licuada y cernido



Mezclado de la fruta, té y agua



Trasvase e inoculación de Scoby



Fermentación

ANEXO Ñ: ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS DE LA BEBIDA PROBIÓTICA ELABORADA  
CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CHIRIMOYA



Acidez titulable



pH y sólidos solubles

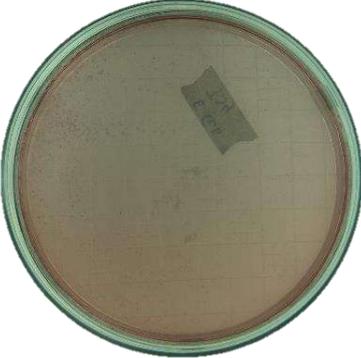


Porcentaje de alcohol

**ANEXO O: ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS DE LA BEBIDA PROBIÓTICA ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CHIRIMOYA**



**ANEXO P: CUADRO RESUMEN DE LOS ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS**

Microorganismo	Resultado	Análisis
Coliformes totales y <i>Escherichia coli</i>	<p data-bbox="639 958 762 987"><b>Ausencia</b></p> 	<p>Para el conteo de <i>E. coli</i> se utilizó el agar MacConkey y a la vez para el conteo de Coliformes totales, debido a que, este medio sirve para el crecimiento de bacterias Gram -, es así como puede crecer (<i>Salmonella, shigella, Enterococcus, Klebsiella, E. coli, etc.</i>). En todos los tratamientos no hubo crecimiento de ningún microorganismo, lo cual es un indicativo que el producto es inocuo y de calidad.</p>
Bacterias Probióticas	<p data-bbox="531 1496 874 1574"><b>15% Pulpa de chirimoya = <math>5,3 \times 10^7</math> UFC/ml</b></p> 	<p>Para el recuento de bacterias probióticas se utilizó el medio de cultivo Agar MRS Lactobacilli, donde se observó colonias de color blanquecinas y presentaron una apariencia mucosida o cremosa. El tratamiento T3 es el único que se considera probiótico, por tener una cantidad de microorganismos viables mayor a <math>1 \times 10^6</math> UFC/ml</p>

---

**15% Pulpa de chirimoya =**  
**1,36x10<sup>9</sup> UFC/ml**

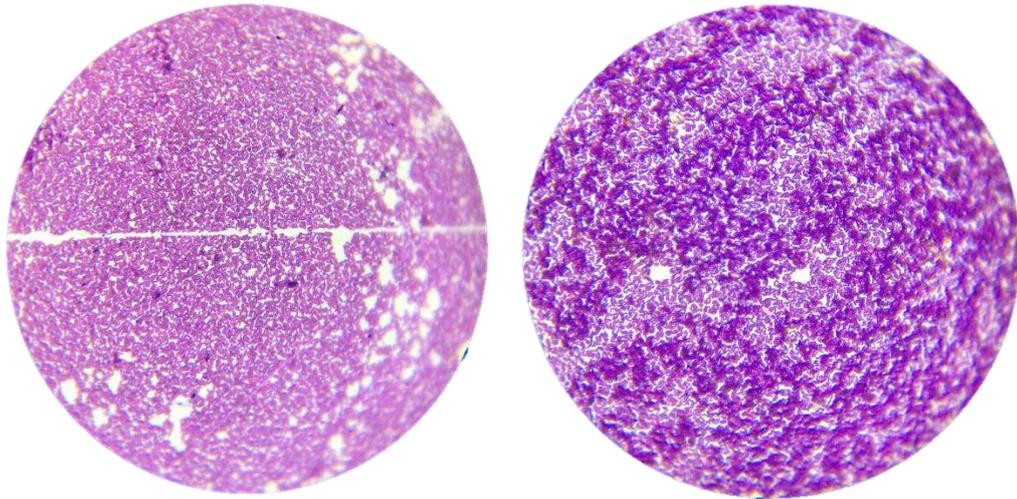
Mohos y  
Levaduras



Para el recuento de mohos y levaduras se utilizó el agar PDA, hay que destacar que en todos los tratamientos no hubo la presencia de mohos, lo que nos demuestra que su consumo es seguro, en cambio las levaduras, presentaron un color crema, aspecto mucoso y de forma irregular.

---

#### **ANEXO Q: TINCIÓN DE GRAM EN BACTERIAS PROBIÓTICAS**



#### **ANEXO R: TINCIÓN EN LEVADURAS**



**ANEXO S: ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO EN LA BEBIDA PROBIÓTICA ELABORADA  
CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CHIRIMOYA**





**UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL**

**REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA**

**Fecha de entrega:** 17 / 05 / 2023

<b>INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)</b>
<b>Nombres – Apellidos:</b> Luis Andrés Montero Mongón
<b>INFORMACIÓN INSTITUCIONAL</b>
<b>Facultad:</b> Ciencias Pecuarias
<b>Carrera:</b> Agroindustria
<b>Título a optar:</b> Ingeniero Agroindustrial
<b>f. responsable:</b> Ing. Cristhian Fernando Castillo Ruiz

x

DIRECCIÓN DE BIBLIOTECAS Y RECURSOS DEL APRENDIZAJE Y LA INVESTIGACIÓN  
Juan Jonathan Parrao Uquillas MBA  
DBRA1 ANALISTA DE BIBLIOTECA 1

0742-DBRA-UTP-2023