



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA AGROINDUSTRIA

**“EVALUACIÓN DE DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE
CAUJE (*Pouteria caimito*) EN UNA BEBIDA FUNCIONAL CON
KÉFIR”**

Trabajo de Integración Curricular.

Tipo: Proyecto Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

AUTOR:

FREDDY ISAÍAS MORENO MORENO

Riobamba – Ecuador

2022



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA AGROINDUSTRIA

**TÍTULO: “EVALUACIÓN DE DIFERENTES NIVELES DE PULPA
DE CAUJE (*Pouteria caimito*) EN UNA BEBIDA FUNCIONAL CON
KÉFIR”**

Trabajo de Integración Curricular.

Tipo: Proyecto Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

AUTOR: FREDDY ISAÍAS MORENO MORENO
DIRECTOR: Dr. BYRON LEONCIO DIAZ MONROY PhD

Riobamba – Ecuador

2022

© 2022, **Freddy Isaías Moreno Moreno**

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, Freddy Isaías Moreno Moreno, 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

Freddy Isaías Moreno Moreno
180454862-4

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: Proyecto Experimental, “**EVALUACIÓN DE DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CAUJE (*Pouteria caimito*) EN UNA BEBIDA FUNCIONAL CON KÉFIR**”, realizado por el señor: **FREDDY ISAÍAS MORENO MORENO**, 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.

	FIRMA	FECHA
Ing. Jesús Ramón López Salazar MSc PRESIDENTE DEL TRIBUNAL	_____	2022-12-07
Dr. Byron Leoncio Díaz Monroy PhD DIRECTOR DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR	_____	2022-12-07
BQF. María Verónica González Cabrera MIEMBRO DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR	_____	2022-12-07

DEDICATORIA

Dedico este Trabajo de Titulación a mi familia por todo el apoyo brindado en el trayecto de mi vida. A mi esposa e hija Jessica y Vivian que me son la fortaleza que me impulsa para continuar siempre adelante.

Freddy

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por brindarme cada día de vida, por permitirme estar bien de salud y darme aliento para continuar avanzando en mi vida profesional. A mis padres María Moreno y Raúl Moreno quienes, con su cariño, amor, me guiaron y me convirtieron en una persona de bien para la sociedad. A todos mis hermanos, por haber compartido vivencias y la ayuda brindada en los momentos difíciles. A mis suegros Felicidad Guanoluisa y José Cali por la confianza y el apoyo brindado en todos los momentos compartidos. A mi esposa Jessica Cali por apoyarme incondicionalmente, a mi hija Viviancita Moreno por ser mi motor que me genera fuerzas para seguir avanzando sin importar los obstáculos que se me presente.

Freddy

TABLA DE CONTENIDO

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

CAPÍTULO I

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

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO.....	6
2.1 Antecedentes de la investigación.....	6
2.1.1 <i>Alimento funcional.</i>	6
2.1.2 <i>Kéfir de agua.</i>	6
2.1.2.1 <i>Origen</i>	6
2.1.2.2 <i>Definición</i>	7
2.1.2.3 <i>Composición Física</i>	7
2.1.2.4 <i>Composición Química</i>	7
2.1.2.5 <i>Composición Microbiológica</i>	7
2.1.2.6 <i>Composición Bioquímica</i>	10
2.1.2.7 <i>Capacidad antioxidante</i>	10
2.1.2.8 <i>Capacidad antimicrobiana</i>	10
2.1.2.9 <i>Preparación del kéfir de agua</i>	11
2.1.2.10 <i>Producción de biomasa a partir del kéfir de agua</i>	11

2.1.3	<i>Fermentación</i>	12
2.1.3.1	<i>Fermentación Láctica</i>	12
2.1.3.2	<i>Fermentación alcohólica</i>	12
2.1.3.3	<i>Fermentación acética</i>	13
2.1.3.4	<i>Fermentación Sumergida</i>	13
2.1.3.5	<i>Cinética de la fermentación del kéfir</i>	13
2.1.4	<i>Beneficios del kéfir de agua</i>	14
2.1.5	<i>Sustrato</i>	14
2.1.6	<i>Sustrato para la fermentación del kéfir de agua</i>	14
2.1.6.1	<i>Panela</i>	14
2.1.6.2	<i>Composición Física</i>	14
2.1.6.3	<i>Composición química y bioquímica</i>	15
2.2	<i>Cauje (Pouteria caimito)</i>	16
2.2.1	<i>Origen</i>	16
2.2.2	<i>Los sinónimos</i>	16
2.2.3	<i>Medio ambiente</i>	16
2.2.4	<i>Propagación</i>	16
2.2.5	<i>Morfología</i>	17
2.2.6	<i>Producción</i>	17
2.2.7	<i>Valor nutricional</i>	17
2.2.8	<i>Taxonomía</i>	18
2.2.9	<i>Estado de madurez</i>	18
2.2.10	<i>Sólidos totales</i>	18
2.2.11	<i>Humedad</i>	19
2.2.12	<i>Proteína</i>	19
2.2.13	<i>Fibra</i>	19
2.2.14	<i>Carbohidratos Totales</i>	20
2.2.15	<i>Consideraciones postcosecha</i>	20
2.2.16	<i>Coste de producción</i>	20
2.2.17	<i>Usos y recetas</i>	20

CAPÍTULO III

3	MARCO METODOLÓGICO	21
3.1	Localización y duración del experimento	21
3.2	Unidades experimentales	21

3.3	Materiales, equipos e insumos.....	21
3.3.1	<i>Materiales</i>	21
3.3.2	<i>Equipos</i>	22
3.3.3	<i>Insumos</i>	23
3.4	Tratamientos y diseño experimental	23
3.4.1	<i>Tratamientos</i>	23
3.4.2	<i>Diseño Experimental</i>.....	24
3.5	Mediciones experimentales.....	24
3.5.1	<i>Caracterización de la fruta de cauje</i>	24
3.5.2	<i>Análisis Físicoquímicos</i>	24
3.5.3	<i>Análisis microbiológico</i>.....	24
3.5.4	<i>Análisis sensorial</i>	25
3.5.5	<i>Análisis económico</i>.....	25
3.6	Análisis estadísticos y pruebas de significancia	25
3.7	Procedimiento experimental (en orden de ejecución)	25
3.7.1	<i>Elaboración de la pulpa de cauje</i>	25
3.7.2	<i>Elaboración de la bebida a base de pulpa de cauje</i>.....	27
3.7.3	<i>Inoculación de la bebida</i>	27
3.8	Metodología de evaluación	27
3.8.1	<i>Caracterización de la fruta de cauje</i>	27
3.8.1.1	<i>Humedad</i>	27
3.8.1.2	<i>Azúcares totales y fermentescibles</i>.....	27
3.8.1.3	<i>Proteína</i>.....	28
3.8.1.4	<i>Fibra</i>.....	28
3.8.2	<i>Análisis de la bebida funcional</i>.....	29
3.8.2.1	<i>Análisis Físicoquímicos</i>	29
3.8.2.1.1	<i>pH</i>.....	29
3.8.2.1.2	<i>Acidez titulable</i>.....	29
3.8.2.2	<i>Análisis Microbiológico</i>	30
3.8.2.2.1	<i>Conteo de bacterias ácido lácticas</i>	30
3.8.2.2.2	<i>Aerobios Mesófilos</i>.....	30
3.8.2.2.3	<i>Coliformes Totales</i>	30
3.8.2.2.4	<i>Mohos y levaduras</i>	30
3.8.2.3	<i>Análisis sensorial</i>	31
3.8.2.4	<i>Análisis económico</i>.....	31
3.8.2.4.1	<i>Costo de producción</i>	31

3.8.2.4.2	<i>Beneficio/Costo (B/C)</i>	31
-----------	------------------------------------	----

CAPÍTULO IV

4	MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	32
4.1	Caracterización de la fruta de cauje	32
4.1.1	<i>Humedad</i>	32
4.1.2	<i>Azúcares Totales</i>	32
4.1.3	<i>Proteína</i>	32
4.1.4	<i>Fibra</i>	33
4.2.1	<i>Acidez (g/L ácido láctico)</i>	33
4.2.2	<i>pH</i>	35
4.2.3	<i>Sólidos Solubles</i>	36
4.3	Análisis Microbiológico de la bebida funcional	38
4.3.1	<i>Coliformes Totales</i>	38
4.3.2	<i>Bacterias Ácido lácticas (Probióticas)</i>	39
4.3.3	<i>Mohos y Levaduras</i>	40
4.3.3.1	<i>Mohos</i>	40
4.3.3.2	<i>Levaduras</i>	40
4.3.4	<i>Aerobios Mesófilos</i>	42
4.4	Análisis Organoléptico de la bebida funcional	43
4.4.1	<i>Color</i>	44
4.4.2	<i>Olor</i>	45
4.4.3	<i>Sabor</i>	45
4.5	Costos de Producción	47
4.5.1	<i>Costos de producción</i>	47
4.5.2	<i>Beneficio/Costo</i>	47
	CONCLUSIONES	49
	RECOMENDACIONES	50
	BIBLIOGRAFIA	
	ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-2:	Bacterias y levaduras que se encuentran en los gránulos de kéfir de agua.....	8
Tabla 2-2:	Cepas microbianas encontradas en los gránulos de kéfir de agua	9
Tabla 3-2:	Composición nutricional de la panela	15
Tabla 4-2:	Composición del cauje por cada 100g comestible.....	17
Tabla 5-2:	Clasificación taxonómica del cauje	18
Tabla 6-3:	Esquema del experimento.....	23
Tabla 7-3:	Esquema del ADEVA.....	25
Tabla 8-3:	Formación de la bebida funcional a base de cauje y kéfir	26
Tabla 9-4:	Estadística descriptiva de la caracterización de la pulpa de cauje	32
Tabla 10-4:	Composición bromatológica de la bebida funcional elaborada con diferentes niveles de pulpa de cauje.....	33
Tabla 11-4:	Análisis microbiológico en la bebida funcional elaborado con diferentes niveles de pulpa de cauje	38
Tabla 12-4:	Valoración organoléptico de la bebida funcional elaborado con diferentes niveles de pula de cauje	44
Tabla 13-4:	Análisis económico de la elaboración de la bebida funcional elaborada con diferentes niveles de pulpa de cauje	48

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1-4:	Acidez de la bebida funcional elaborada con diferentes niveles de pulpa de cauje.....	34
Ilustración 2-4:	pH de la bebida funcional elaborado con diferentes niveles de pulpa de cauje	36
Ilustración 3-4:	Sólidos Solubles de la bebida funcional elaborada con diferentes niveles de pulpa de cauje	37
Ilustración 4-4:	Bacterias probióticas en la bebida funcional elaborada con diferentes niveles de pulpa de cauje	40
Ilustración 5-4:	Levaduras en la bebida funcional elaborada con diferentes niveles de pulpa de cauje.....	41
Ilustración 6-4:	Aerobios mesófilos en la bebida funcional elaborado con diferentes niveles de pulpa de cauje	43
Ilustración 7-4:	Comportamiento del color de la bebida funcional por efecto del empleo de diferentes niveles de pulpa de cauje	45
Ilustración 8-4:	Comportamiento del sabor de la bebida funcional elaborada con diferentes niveles de pulpa de cauje	46

ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LA CARACTERIZACIÓN DE LA PULPA DE CAUJE
- ANEXO B:** RESULTADOS FISICOQUÍMICOS DE LA BEBIDA FUNCIONAL ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CAUJE
- ANEXO C:** ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA ACIDEZ DE LA BEBIDA FUNCIONAL ELABORADO CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CAUJE
- ANEXO D:** ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS SÓLIDOS SOLUBLES DE LA BEBIDA ELABORADO CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CAUJE
- ANEXO E:** ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL pH DE LA BEBIDA FUNCIONAL ELABORADO CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CAUJE
- ANEXO F:** ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LAS BACTERIAS ÁCIDO-LÁCTICAS EN LA BEBIDA ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CAUJE
- ANEXO G:** ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LAS LEVADURAS EN LA BEBIDA FUNCIONAL ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CAUJE
- ANEXO H:** ANÁLISIS ESTADÍSTICO, AEROBIOS MESÓFILOS EN LA BEBIDA FUNCIONAL ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CAUJE
- ANEXO I:** RESULTADO DE LA VALORACIÓN SENSORIAL EN LA BEBIDA FUNCIONAL ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CAUJE
- ANEXO J:** ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL COLOR DE LA BEBIDA FUNCIONAL ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CAUJE
- ANEXO K:** ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL OLOR DE LA BEBIDA FUNCIONAL
- ANEXO L:** ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL SABOR DE LA BEBIDA FUNCIONAL ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CAUJE
- ANEXO M:** CARACTERIZACIÓN DEL CAUJE
- ANEXO N:** ELABORACIÓN DE LA BEBIDA FUNCIONAL CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CAUJE
- ANEXO Ñ:** PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS DE LA BEBIDA FUNCIONAL ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CAUJE

ANEXO O: PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS DE LA BEBIDA FUNCIONAL
ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CAUJE

ANEXO P: ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO DE LA BEBIDA FUNCIONAL
ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CAUJE

RESUMEN

La investigación se basó en evaluar los diferentes niveles de pulpa de cauje (*Pouteria caimito*) en una bebida funcional con kéfir, en el que se utilizó pulpa de cauje 10, 20 y 30%, panela 10%, kéfir 16,5% y agua. La bebida se fermentó a temperatura ambiente de la ciudad de Riobamba (14°C) por 48 horas. Se caracterizó la fruta, mediante la humedad, azúcares totales, proteína y fibra. En los parámetros fisicoquímicos de la bebida, se midió el pH, acidez y sólidos solubles. En los análisis microbiológicos se aplicó el método de siembra por profundidad, y extensión en placa, de acuerdo con la dilución establecida para cada microorganismo. En el análisis organoléptico se aplicó una prueba hedónica de 5 puntos a 30 panelistas no entrenados y en el análisis económico, se utilizó el indicador Beneficio/Costo. Para el análisis de los resultados se utilizó el Software InfoStat, aplicando un Diseño Completamente al Azar (DCA), con la prueba de DUNCAN ($P \leq 0,01$) y para lo sensorial la prueba de Friedman. La pulpa de cauje (*Pouteria caimito*) presenta una humedad de $81,1 \pm 0,42\%$, azúcares totales de $10,58 \pm 0,30\%$, proteína $1,03 \pm 0,13\%$ y fibra $1,13 \pm 0,14\%$. Al utilizar la panela como tratamiento control, presenta las mejores características fisicoquímicas y organolépticas. Todos los tratamientos presentaron ausencia de Coliformes totales, el crecimiento de BAL y levaduras fue mayor a 1×10^8 UFC/ml ubicándose en la categoría de alimento probiótico. El 10% de pulpa de cauje presenta la mayor rentabilidad económica por litro de bebida con \$ 1,39, con un beneficio/costo de \$ 1,44, es así que, se recomienda a las personas consumir la bebida porque aumenta la diversidad de la flora microbiana.

PALABRAS CLAVE: < KÉFIR >, < CAUJE (*Pouteria caimito*)>, < PROBIÓTICO>, < BEBIDA FUNCIONAL>, < BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS (BAL)>, < LEVADURAS>.

0717-DBRA-UPT-2023

ABSTRACT

The research was based on evaluating the different levels of cauje pulp (*Pouteria caimito*) in a functional drink with kefir, in which 10, 20 and 30% cauje pulp, panela 10%, kefir 16.5% and water were used. The drink was fermented at room temperature in Riobamba City (14°C) for 48 hours. The fruit was characterized by moisture, total sugars, protein and fiber. In the physicochemical parameters of the drink, pH, acidity and soluble solids were measured. In the microbiological analyzes, the method of sowing by depth, and extension in plate, was applied according to the dilution established for each microorganism. In the organoleptic analysis, a 5-point hedonic test was applied to 30 untrained panelists and in the economic analysis, the Benefit/Cost indicator was used. For the analysis of the results, the InfoStat Software was used, applying a Completely Random Design (DCA), with the DUNCAN test ($P \leq 0.01$) and for the sensory the Friedman test. The pulp of cauje (*Pouteria caimito*) presents a humidity of $81.1 \pm 0.42\%$, total sugars of $10.58 \pm 0.30\%$, protein $1.03 \pm 0.13\%$ and fiber $1.13 \pm 0.14\%$. When using panela as a control treatment, it presents the best physicochemical and organoleptic characteristics. All treatments presented absence of total coliforms, the growth of BAL and yeasts was greater than 1×10^8 UFC/ml, placing in the category of probiotic food. The 10% of cauje pulp presents the highest economic profitability per liter of drink with \$1.39, with a benefit/cost of \$1.44, so it is recommended that people consume the drink because it increases the diversity of the microbial flora.

KEYWORDS: < KEFIR >, < CAUJE (*Pouteria caimito*)>, < PROBIOTIC>, < FUNCTIONAL DRINK>, < LACTIC ACID BACTERIA (BAL)>, < YEAST>.

0717-DBRA-UPT-2023

Mgs. Deysi Lucía Damián Tixi

C.I. 0602960221

INTRODUCCIÓN

El cauje es originario de las cabeceras del Río Amazonas, donde se lo encuentra de manera natural en el Perú, Ecuador, Colombia, Venezuela, Brasil, este fruto pertenece a la familia de las sapotáceas, así mismo como el Mamey y el Caimito. También, se lo conoce como luminancia y en otros lugares se los conoce con el nombre de Temare en Venezuela; Abiu en Brasil y en el oriente ecuatoriano y en la costa ecuatoriana se lo conoce con el nombre de cauje (Love & Paull, 2011: pp.1-6).

La forma de la fruta es ovalada y con un pupo al final, tiene de 1 a 4 semillas de forma ovalada de color negro o café, la pulpa es blanca semi transparente, dulce, en la piel contiene una pequeña cantidad de látex, con presencia de minerales y aminoácidos esenciales que ayudan al buen funcionamiento de nuestro organismo (Inga, 2014, pp.2-4).

El árbol de cauje puede alcanzar la longitud de 30 metros aproximadamente y vivir por encima de los 30 años, el cauje empieza a producir frutos a partir de los 3 años de vida. En la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas al ser una región con una humedad relativa del 80% y estar siempre expuesta a precipitaciones de lluvia, es un clima ideal para la producción del cauje, debido a que el árbol para que se desarrolle y produzca frutos, necesita la presencia de agua. Un árbol a la edad de 10 a 15 años por cosecha puede llegar a producir hasta 1000 frutas, las flores del árbol son de 0.5cm y es de gran presencia en todas las ramas.

El kéfir de agua son gránulos similares a una coliflor, con una longitud promedio de 5 a 20mm, apariencia translúcida y estructura elástica. Producto de la fermentación durante uno o dos días a temperatura ambiente se obtiene una bebida carbonatada ligeramente coloreada, con sabor levemente ácido por la producción de ácido láctico y ácido acético, poca cantidad de azúcar y una ligera cantidad de alcohol (Gulitz et al., 2011: p.284-288).

En la búsqueda de elaborar nuevas bebidas funcionales hemos decidido usar al kéfir de agua, que no es popular su consumo, asociándolo con una fruta exótica como el cauje que nos brinda una serie de nutrientes, al final obtendremos una bebida funcional que concederá muchos beneficios a nuestra salud. Promoviendo de esta forma al consumo de productos biotecnológicos que buscan el bienestar de la sociedad y que generan nuevos rubros a nuestros agricultores.

En el capítulo I se presenta el diagnóstico del problema, es aquí donde se detalla los antecedentes, el problema que se desea resolver con la investigación, la justificación del trabajo y los objetivos

planteados. En el capítulo II se puede apreciar el marco teórico, donde se da a conocer, definiciones y resultados previos obtenidos en otras investigaciones. En el capítulo III se observa el Marco Metodológico, aquí se presenta la localización donde se realizará toda la investigación, y el tiempo o duración que durará la misma, además se da a conocer todos los materiales, equipos e insumos que serán utilizados, también se presentan los tratamientos que son distribuidos con sus respectivas repeticiones, además se presenta el diseño experimental que se va a emplear y finalmente se observa todos los análisis fisicoquímicos, microbiológicos, organolépticos y económicos, que se va aplicar a la bebida funcional acompañada de su análisis estadístico y la prueba de significancia, para así, conocer cual presenta las menores características.

En el capítulo IV, se muestran los resultados obtenidos, luego de aplicar la metodología aplicada en el capítulo anterior, se puede destacar al tratamiento control, al que se añadió panela, siendo el que presenta los mejores resultados en la mayoría de los parámetros analizados, además se observa la relación que genera el incluir diferentes niveles de pulpa de cauje en los parámetros fisicoquímicos, en el crecimiento de microorganismos viables y en la rentabilidad económica de la bebida.

Existen muchas es que abarcan el uso del kéfir, pero no una en la que se utilice el cauje (*Pauteria caimito*) como sustrato para obtener una bebida funcional, esto abre un nuevo camino para que se pueda investigar el uso de frutas poco conocidas y exploradas a nivel de laboratorio e industrial, para poder generar nuevos productos que destaquen en el mercado y así poder aumentar los ingresos económicos a nivel local y nacional.

CAPÍTULO I

1. DIAGNÓSTICO DEL PROBLEMA

1.1 Antecedentes

La investigación efectuada por (Hernández et al., 2009: pp.70-73) sobre *Chrysophyllum cainito* L., especie perteneciente a la familia *Sapotaceae* al igual que *Pouteria cainito* (cauje) Radlk., resalto entre sus conclusiones, la confrontación de las cualidades bromatológicas de frutos cosechados en dos distintos ejidos mexicanos, resaltando valor que tiene la búsqueda de frutos con más presencia de pulpa, para elevar su utilización potencial como producto procesado o fresco, siendo éste último la vía de mayor consumo en los mercados locales y extranjeros, de los cuales destacan Australia, Filipinas, Francia y Estados Unidos, en donde llega a tener un precio promedio de 19 dólares por kilo.

Las propiedades funcionales junto con el alto valor nutricional de los alimentos ayudan a mejorar el estado de salud de los consumidores, como es el caso de los antioxidantes (Martínez et al, 2007: pp.286-297) demostraron que los frutos de mamey (*Pouteria sapota*), perteneciente a la familia *Sapotaceae*, cuentan con un nivel mayor de carotenoides (690µg de β-caroteno/kg), iniciador de la vitamina A, y de ácido ascórbico (0,22 g/kg), en colacionar con otras frutas tropicales como la papaya y el hobo.

La productividad del caimito *Pouteria cainito* (cauje) de la Amazonía central de Brasil fue de 77 kg por árbol, lo que equivale a 21 toneladas por hectárea (t/ha), esto hablando de frutas de 57 g a 238 g de peso con un 42% de pulpa comestible. El rendimiento mencionado es elevado junto con el estado nutricional y el estrés fitosanitario de los especímenes estudiados. En la investigación llevado a cabo por (Falcao & Clement, 1999: pp.3-11).

Al estudiar frutos nuevos por su potencial nutricional y funcional es esencial estudiar sus características morfológicas para determinar condiciones de almacenamiento y transporte. Sobre la biometría de los frutos de caimito *Pouteria cainito* (cauje). El diámetro y la longitud evaluados en promedio fueron de 58,99 y 51,66 mm respectivamente, la masa evaluada en promedio fue de 87,74 g y presentaron de 1 a 3 semillas por fruto (Moraes et al., 2016: pp.72-75).

1.2 Planteamiento del problema

La principal razón por la que el problema surgió es por la necesidad que tienen los agricultores de diversificar la cantidad de productos en el mercado y así generar un incentivo económico para sus hogares. En los campos de la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas existe la producción de cauje (*Pouteria caimito*) de manera inintencional, debido a que es un árbol que se adapta a las condiciones climáticas de la provincia. Al ver que la gran mayoría de sus frutos se desperdician al no tener aceptación en los mercados por el gran desconocimiento de la población de las bondades que puede brindar en nuestra alimentación, debido a que tiene propiedades funcionales y una serie de vitaminas, minerales que mejoran el funcionamiento de nuestro cuerpo, además de ser un fruto apetecible, refrescante y aprovecharlo usando como sustrato para la elaboración de una bebida funcional de kéfir de agua, debido a la alta presencia de azúcares que permitirán realizar esta bebida.

En la actualidad no existen registros que referencien la producción de manera intensiva del cauje, solo se lo realiza de forma esporádica, destinando los territorios para producir los productos tradicionales como son el café, cacao, banano, ganado, etc. Viendo una gran oportunidad al producir cauje ya que es un árbol que brinda una gran producción y que el mercado no está todavía explotado.

El propósito de este trabajo experimental es proporcionar información científica pertinente para incentivar al agricultor ecuatoriano a explorar otras fuentes económicas alternativas que produce su tierra, entre las cuales se encuentra el cauje, dando así un valor agregado y generando mayor bienestar a los agricultores.

1.3 Justificación

Un alimento funcional es aquel que se lo encuentra de manera natural o sujeto a transformaciones de diferentes procesos, formando parte de una dieta diversa, consumido en porciones correctas y de forma moderada, además de nutrir, dispone de elementos bioactivos que contribuyen al normal desempeño de las funciones fisiológicas y que ayudan a disminuir o evitan el riesgo de enfermedades (INEN 2587, 2011: p 2).

Las industrias que se dedican a la producción de bebidas a base de frutas están tomando en cuenta a las exigencias de los consumidores, con el progresivo cambio de consumo de productos más sanos y que contengan propiedades que ayuden a mejorar la salud (Corbo et al., 2014: p.7).

La producción de cauje cada vez va ganando terreno y su producción no es aprovechada al 100% en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, al ser un producto estacionario, no hay presencia de el en todo el año, el presente trabajo busca una alternativa de industrialización del cauje con una bebida funcional, asegurará que los beneficios presentes en la fruta tengan la disponibilidad en todo tiempo. La fruta es rica en vitaminas y minerales, tiene tiamina, riboflavina, niacina, calcio, hierro, fósforo y además la presencia de la lisina (Lim, 2012, pp.129-132). El uso de la pulpa de cauje nos brinda un sustrato rico en azúcares donde se puede inocular el Kéfir de agua, donde este se alimentaria de los azucares y producirá ácido láctico y biomasa en condiciones fermentativas. En la búsqueda de cubrir todas las preferencias alimenticias de los consumidores, se propone la creación de una bebida funcional no convencional, que use un sustrato de origen vegetal en este tipo de bebidas, que no cause ninguna alergia de sus componentes como ocurre con la leche (Bazán, 2020, p.43).

Por lo descrito anteriormente, el presente trabajo experimental evaluará los diferentes niveles de cauje (*Pouteria caimito*) en una bebida funcional con Kéfir, para determinar cuál tratamiento es el que brinda mejores características organolépticas y funcionales.

1.4 Objetivos

1.4.1 General.

- Evaluar diferentes niveles de pulpa de cauje (*Pouteria caimito*) en una bebida funcional con kéfir.

1.4.2 Objetivos específicos

- Establecer las características fisicoquímicas de la fruta de cauje (*Pouteria caimito*).
- Determinar el mejor nivel de pulpa de cauje (*Pouteria caimito*) (10%, 20%, 30%) como sustrato para la fermentación y obtención de una bebida a base de kéfir de agua en relación al tratamiento control (Panela al 10%).
- Evaluar las características microbiológicas, bioquímicas y organolépticas de la bebida obtenida.
- Calcular el beneficio/costo de este nuevo producto destinado a un mercado común.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de la investigación

(Peninnton, 2002, pp.419-434) Manifiesta que desde los años 400 DC ya existen registros de alimentos que eran diseñados para nutrir y mejorar la salud de las personas que lo consumían, con el paso del tiempo y el desarrollo de la tecnología los alimentos funcionales han tomado una gran acogida por la sociedad; en la actualidad a los alimentos funcionales los tenemos a nuestro alcance con una alta gama de productos que con los estudios pertinentes ayudan a mejorar la calidad de vida por sus propiedades antioxidantes, multivitamínicas, mineralizados, etc. Japón fue el que definió a los alimentos funcionales en los años 80 debido al alto costo de los seguros de salud, así desarrollaron alimentos con componentes bioactivos.

2.1.1 *Alimento funcional*

Un alimento funcional es aquel que se lo encuentra de manera natural o sujeto a transformaciones de diferentes procesos, formando parte de una dieta diversa, consumido en porciones correctas y de forma moderada, además de nutrir dispone de elementos bioactivos que contribuyen al normal desempeño de las funciones fisiológicas y que ayudan a disminuir o evitan el riesgo de enfermedades (INEN 2587, 2011, p.2).

Los alimentos funcionales tienen compuestos que son de actividad nutritiva propia que beneficia la salud de los consumidores. Mejoran las funciones del organismo, con su poder antioxidantes, reduciendo el estrés oxidativo ocasionado por radicales libres que deterioran irreparablemente las células con la disminución gradual de la homeostasis y de patrones de expresión génica que conducen al envejecimiento y muerte celular (Ortega, 2020, pp.25-26).

2.1.2 *Kéfir de agua*

2.1.2.1 *Origen*

El origen del kéfir de agua es incierto. Una historia de los hongos tibetanos cuenta que, a principio del siglo XII en Asia central, algunos monjes tibetanos fueron a recolectar frutos para alimentarse y miraron a un oso que penaba y con el empleo de sus últimas fuerzas se fregaba en un árbol que

estaba recubierto con una sustancia blanca mucosa, luego de pasar varios días se dieron cuenta asombrados que el animal caminaba completamente sano y rápidamente revisaron el árbol y encontraron estos hongos blancos. Los monjes los conservaron y pusieron a prueba sus propiedades curativas al ingerirlos, además, se idearon un método para poderlos conservar por más tiempo (Disegni, 2012, p.2).

2.1.2.2 Definición

El kéfir de agua es un conjunto multiespecífico microbiano que se localiza estable con una diversidad de microorganismos y se emplea para elaborar una bebida fermentada con sustrato de sacarosa y agua (Davidović et al., 2014: pp.594-604; Waldherr et al., 2010: pp.672-678). Esta bebida es estimada como un probiótico y está conformada de granos y un sobrenadante, en el cual, está contenido de la unión de microorganismos, etanol, ácidos, vitaminas, aminoácidos, polisacáridos y sustancias volátiles. El fluido obtenido del resultado del proceso es nublado y efervescente, de baja acidez, con gas, levemente alcohólica y algo dulce, dependiendo del factor que es el tiempo de fermentación. Se especificaron las especies microbianas que tienen presencia en los granos como consorcio constante y simbiótico de bacterias del ácido acético, varios lactobacillus y levaduras.

2.1.2.3 Composición Física

El kéfir de agua son gránulos semejantes a una coliflor, con una longitud promedio de 5 a 20 mm, con un aspecto transparente y textura elástica, los microorganismos están adheridos en los gránulos, en una estructura de hielo partido en trocitos (Strada et al., 2009: pp.1022-1026; Monar et al., 2014: pp.60-66).

2.1.2.4 Composición Química

El kéfir de agua produce diferentes líquidos azucarados, nutriéndose de los glúcidos para elaborar ácido láctico, dióxido de carbono que ocasiona que la bebida quede carbonatada y también produce etanol. Estos microorganismos producen una variedad de fermentación hidroalcohólica en agua y en leche (Strada et al., 2010: pp.1022-1026; Waldherr et al., 2010: pp.672-678).

2.1.2.5 Composición Microbiológica

Hay muchos estudios realizados sobre el kéfir de agua con referencia a su composición microbiológica para conocer que bacterias y levaduras se hallan dentro del consorcio microbiano

presente. Según (Teixeira et al., 2011: pp.693-702) al aislar un total de 289 bacterias y 129 levaduras, durante la marcha fermentativa, el 57.65% fueron bacterias ácido lácticas, seguido de levaduras que representaban el 30.86% y por último las bacterias acéticas con el 11.48%. Mediante Microscopía electrónica de barrido se evidenció que el microbiota presente predomina los bacilos células (cortas y curvas de largo) que se aumentan en estrecha asociación con las células de levaduras en forma de limón (Teixeira et al., 2011: pp.693-702). Se detalla en la siguiente tabla: 1-2 y 2-2, los microorganismos presentes en los gránulos de kéfir.

Tabla 1-2: Bacterias y levaduras que se encuentran en los gránulos de kéfir de agua

BACTERIAS	%
<i>Lactobacillus paracasei</i>	23,8
<i>Acetobacter lovaniensis</i>	16,61
<i>Lactobacillus parabuchneri</i>	11,76
<i>Lactobacillus kefir</i>	10,03
<i>Lactococcus lactis</i>	10,03
<i>Lactobacillus casei</i>	8,6
<i>Lactobacillus paracasei subsp. Paracasei</i>	7,96
<i>Leuconostoc citreum</i>	5,54
<i>Lactobacillus paracasei subsp. Tolerans</i>	3,11
<i>Lactobacillus buchneri</i>	2,42
LEVADURAS	%
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	54,26
<i>Kluyveromyces lactis</i>	20,15
<i>Lachancea meyersii</i>	10,85
<i>Kazachstania aerobia</i>	14,73

Fuente: (Teixeira et al., 2011: pp.693-702)

Tabla 2-2: Cepas microbianas encontradas en los gránulos de kéfir de agua

BACTERIAS	
<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Lactobacillus hilgardii</i>
<i>Lactobacillus lactis cremoris</i>	<i>Lactobacillus casei subsp. Casei</i>
<i>Lactobacillus casei subsp. rhamnosus</i>	<i>Acetobacter aceti</i>
<i>Lactobacillus casei subsp. Pseudopantarum</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>
<i>Lactobacillus buchneri</i>	<i>Lactobacillus fructivorans</i>
<i>Lactobacillus keranofaciens</i>	<i>Lactobacillus kefir</i>
<i>Lactobacillus collinoides</i>	<i>Lactococcus lactis subsp. Lactis</i>
<i>Lactococcus lactis subsp. Cremoris</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides subsp. Mesenteroides</i>
<i>Leuconostoc mesenteroides subsp. Dextranicum</i>	<i>Enterobacter hormachei</i>
<i>Gluconobacter frateuri</i>	<i>Chryseomonas luteola</i>
BIFIDOBACTERIA	<i>B. psychraerophilum</i>
LEVADURAS	
<i>Saccharomyces bayanus</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Saccharomyces florentinus</i>	<i>Saccharomyces pretoriensis</i>
<i>Zygosaccharomyces florentinus</i>	<i>Candida valida</i>
<i>Hanseniaspora vlnae</i>	<i>Hanseniaspora yalbensis</i>
<i>Kloeckera apiculata</i>	<i>Candida lambica</i>
<i>Candida colliculosa</i>	<i>Toruspola delbruechii</i>
<i>Candida inconspicua</i>	<i>Candida magnoliae</i>
<i>Candida famata</i>	<i>Candida kefir</i>
<i>Kluyveromices lactis</i>	<i>Kluyveromices marxianus</i>

Fuente: (Strada et al., 2010: pp.1022-1026; Waldherr et al., 2010: pp.672-678)

2.1.2.6 Composición Bioquímica

Los gránulos de kéfir de agua se forman aproximadamente de 890 a 900 g/kg de agua, 30 g/kg de proteínas, 60 g/kg de azúcares, 2 g/kg de lípidos, y 7 g/kg de cenizas (Strada et al., 2009: pp.1022-1026). Conformados por unión de polisacáridos, principalmente por dextranos insolubles en agua, distribuido en dos capas. La exterior es consistente y en ella están toda la unión de microorganismos que conforman levaduras y bacterias, mientras que la interior está constituida de una estructura porosa debido a la aglomeración de CO₂ que se obtiene durante la fermentación (Moreno, 2005, pp. 30-37).

2.1.2.7 Capacidad antioxidante

En pocas palabras la actividad antioxidante es la propiedad de un elemento para eliminar la degeneración oxidativa (elimina los radicales libres), producida por el metabolismo natural del cuerpo. En la alimentación diaria, la presencia de antioxidantes dependerá, entre otros factores, de la fracción del alimento que coma. Un claro ejemplo, los monofenoles (tocoferoles principalmente) la tendencia a tener mayor presencia en semillas que hay mayor cantidad de grasas; además, en las frutas hay una gran cantidad de antioxidantes y son una fuente que cubre diariamente la cantidad que necesita nuestro cuerpo para la regeneración celular. Los compuestos antioxidantes inhiben la producción de radicales libres y cuidan a las células del efecto oxidativo causado por los radicales libres (Ortega, 2020, p.27).

2.1.2.8 Capacidad antimicrobiana

El ácido láctico es un bacteriostático ejerce un efecto inhibitorio contra bacterias Gram+ y Gram – (Rosa et al., 2017: pp.82-96). De acuerdo con (Malma et al., 2020: p.75) reportaron la ausencia de Coliformes totales, al aplicar el método cinético de almacenamiento acelerado, destacando que la bebida presenta un tiempo de vida útil de 30 a 40 días. Muchos microorganismos presentes en el kéfir presentan acción antimicrobiana entre estos podemos destacar *Lactococcus lactis*, *Lacticaseibacillus paracasei* que exhibe acción inhibitoria contra *Escherichia coli*, *Salmonella entérica*, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* (Leite et al., 2015: pp.3622-3632).

Se ha encontrado un péptido microbiano del kéfir conocido como péptido F1, el cual está formado por 18 aminoácidos que permite aumentar la permeabilidad de la membrana externa e interna de *E. coli*, ocasionado la interrupción de las funciones de la membrana celular, eliminando este microorganismo (Miao et al., 2016: pp.63-72).

Los gránulos de Kéfir de agua han demostrado propiedades antifúngicas específicamente contra *Aspergillus ochraceus* AFUNL9, principalmente se debe a la combinación del descenso del pH y los productos metabólicos de la fermentación como es el ácido láctico y acético en su forma no disociada (Caro & León, 2014: pp.191-200).

2.1.2.9 Preparación del kéfir de agua

El kéfir de agua se acondiciona en una solución de sacarosa (100 g /L) en 1 L de agua filtrada a temperatura ambiente; se ubica los gránulos de kéfir en un envase de vidrio con el sustrato seleccionado (Gulitz et al., 2011: pp.284-288).

El envase se lo sella con una tela porosa o con una tapa que ajuste adecuadamente y evite la contaminación (Moreno, 2005, pp.30-37). La fermentación se da a una temperatura de 21 °C por dos a tres días, cuanto más tiempo dure la fermentación mayor será su sabor (Gulitz et al., 2011: pp.284-288).

Luego se filtra en un tazón o jarra manteniendo los gránulos de kéfir de agua que se pueden continuar cultivando inmediatamente o también se pueden guardar en el agua en el refrigerador hasta por una semana (Moreno, 2005, pp.30-37).

2.1.2.10 Producción de biomasa a partir del kéfir de agua

Para elaborar, de una manera casera, la mayor producción de biomasa del kéfir de agua a partir de sustratos a base de glúcidos de relativo bajo costo de la industria azucarera podría ser (panela, piloncillo, melaza, mascabado, melado, azúcar blanca y azúcar morena) y el jugo de piña, betabel, tuna o de frutas que contengan azúcar en su composición en concentraciones altas (Díaz et al., 2015: pp.143-146).

Se emplea diferentes formulaciones de cada sustrato, así como diversas temperaturas y tiempos de incubación. La biomasa del kéfir de agua se puede cuantificar por peso húmedo drenado (g/100 ml); la tasa específica de desarrollo se calcula en g/hora (Díaz et al., 2015: pp.143-146).

La cantidad más elevada en la producción de kéfir de agua (78,8 g/100 ml) se obtiene con 50 g de panela en el medio de cultivo, la mayor productividad de biomasa (1,9 g/hora) y 29 °C y 72 horas de incubación (Díaz et al., 2015: pp.143-146).

2.1.3 Fermentación

(Morales, 2014, p.41) menciona que el proceso de fermentación es un proceso “CATABÓLICO” llevado a cabo por elementos vivos (bacterias, levaduras o células animales) o no vivos (enzimas) que, a través una sin número de reacciones, un compuesto orgánico se oxida parcialmente sin presencia de oxígeno para obtener energía química. Además, la glucosa no se descompone totalmente a CO₂ y H₂O, sino que se realiza la producción de una degradación incompleta de la cadena carbonada. Sin duda alguna este método de fermentación es uno de los métodos más antiguos para la conservación de alimentos y es uno de los menos comprendidos pero de los más importantes.

2.1.3.1 Fermentación Láctica

(Jayabalan; et al, 2007: pp.392–398) menciona que “el ácido pirúvico es reducido a ácido láctico por medio del NADH + H⁺, de esta forma el NAD⁺ se recupera y pueden ser degradadas nuevas moléculas

de la glucosa”. Mediante la fermentación láctica se originan un conjunto de ácidos que son los responsables de disminuir el pH de la disolución (Morales, 2014, p.43), también dice que los ácidos presentes son: ácido láctico, tartárico, málico y en menor cantidad cítrico (aparece a partir del tercer día de su fermentación).

Los gránulos de kéfir contienen un sinnúmero de bacterias específicamente BAL, que se encargan de transformar la glucosa del medio en ácido láctico, pero para ellos existen 2 vías o rutas metabólicas, la glucólisis, en la que se involucran Bacterias Homofermentativas (*L. delbrueckii* y *L. acidophilus*) que crecen a favorablemente a 45°C y bacterias como (*L. casei* y *L. plantarum*) que crecen favorablemente a 15°C, las mismas trabajan en ausencia de oxígeno transformando la glucosa en ácido láctico, en cambio la vía monofosfato de hexosa donde actúan bacterias Heterofermentativas (*L. fermentum*, *L. brevis* y *L. keferi*) actúan en presencia de oxígeno, a partir de glucosa obtienen otros productos a parte del ácido láctico (Ácido acético, etanol, CO₂, etc.) (Todar, 2005, pp.95-103).

2.1.3.2 Fermentación alcohólica

Puede ser producida por levaduras, mohos y algunas bacterias, que generan cambios químicos en las sustancias orgánicas y que adicional se considera como un proceso anaeróbico (Vázquez, 2007; citados en Morales, 2014, p.42) Menciona que las levaduras transforman los carbohidratos (generalmente azúcares: glucosa, fructosa, sacarosa, almidón, etc.) en etanol

(CH₃-CH₂-OH), dióxido de carbono (CO₂) y ATP que consumen los propios microorganismos en su metabolismo celular energético anaeróbico y que la fermentación alcohólica tiene como objetivo proporcionar energía anaeróbica a los microorganismos unicelulares (levaduras) en ausencia de oxígeno a partir de la glucosa.

(Vázquez, 2007, pp.249-259) las levaduras son precursoras de la fermentación, el oxígeno será el desencadenante para su fase de crecimiento. Además, que siendo mínima la cantidad de oxígeno al final de la fermentación para evitar la pérdida de etanol y la aparición en su lugar de ácido acético. En este tipo de fermentación se desprende energía en forma de calor (proceso exotérmico), siendo necesario controlar este aumento de temperatura ya que si sobrepasa los 25 – 30°C las levaduras comenzarían a morir deteniéndose el proceso fermentativo. Otro producto de la fermentación es el anhídrido carbónico (CO₂) responsable del burbujeo, la ebullición y el aroma característico de un producto fermentado (Morales, 2014, p.42).

2.1.3.3 Fermentación acética

(Jayabalan., et al 2007; citados en Morales, 2014, p.43) Menciona que, la fermentación acética es producida por el Acetobacter, un género de bacterias aeróbicas que utiliza como sustrato el alcohol para originar ácido acético. Estas bacterias a diferencia de las levaduras productoras de alcohol requieren gran cantidad de O₂ para su crecimiento y actividad. Además, dice que el proceso metabólico se basa en la conversión del etanol en acetaldehído (Rx catalizada por la enzima alcohol deshidrogenasa) y del acetaldehído hidratado en ácido acético por la acción de la enzima acetaldehído deshidrogenasa.

2.1.3.4 Fermentación Sumergida

La fermentación sumergida en cultivo fue detallada por (FAO & OMS, 200: p.1) los nutrientes se encuentran en forma líquida en este tipo de fermentación sumergida y los microorganismos crecen flotando libertadamente en suspensión en el volumen de medio de cultivo o formando agregados más o menos esféricos en el caso de los cultivos de hongos.

2.1.3.5 Cinética de la fermentación del kéfir

Es el estudio de la velocidad y mecanismo presente de una reacción. La velocidad de la fermentación se explica cómo las transformaciones en el tiempo, de la conglomeración de la materia viva de microorganismos, de los productos formados y el sustrato. La velocidad de la

fermentación va a depender directamente de la temperatura del ambiente, que ésta incide en el crecimiento y metabolismo de los microorganismos (Puerta, 2013, p.43).

2.1.4 Beneficios del kéfir de agua

Hay un sin número de efectos beneficiosos que se le otorga al kéfir de agua por parte de los consumidores tales como: tratar enfermedades del aparato digestivo, úlceras, colitis ulcerosa, intolerancia gástrica, colon irritable, divertículos, entre otros (Palmetti, 2010, p.4).

2.1.5 Sustrato

Es la base, materia o sustancia que sirve de sostén a un organismo, ya sea vegetal, animal o protista, en el cual transcurre su vida; el sustrato satisface determinadas necesidades básicas de los organismos como la fijación, la nutrición, la protección, la reserva de agua (Teixeira et al., 2011: pp.693-702). El descenso ocurre por el metabolismo de la sacarosa, en el que interviene una enzima producida por las levaduras (invertasa) que se encarga de romper la estructura de la sacarosa en glucosa y fructosa, de ahí su utilización para la obtención de productos como son: ácidos orgánicos (Láctico, acético) CO₂, etanol y otros metabolitos como son: manitol, glicerol, ésteres, compuestos volátiles, minerales, aminoácidos esenciales, vitaminas, ácido fólico, bacteriocinas, péptidos bioactivos, y algunos componentes nutracéuticos (Garofalo et al., 2020: p.3; Fiorda et al., 2017: pp.86-95).

2.1.6 Sustrato para la fermentación del kéfir de agua

2.1.6.1 Panela

Es el producto alimenticio obtenido del extracto de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum L*), este azúcar es considerado natural e integral, no centrifugado y sin refinamiento (De los Reyes, 2011, p.1).

2.1.6.2 Composición Física

Se presenta de forma sólida, al público la venden en bloques rectangulares, semiesféricos o granulados. En bloque la humedad media bordea el 7 % lo que disminuye su vida útil en comparación con la panela granulada y edulcorantes con menores porcentajes de humedad (De los Reyes, 2011, pp.5-6).

2.1.6.3 Composición química y bioquímica

Contiene principalmente carbohidratos, proteínas, minerales, vitaminas indispensables para el organismo. Los carbohidratos que se encuentran presentes en la panela tenemos en mayor cantidad la sacarosa y menor proporción los azúcares reductores como la glucosa y la fructosa. Estos azúcares tienen una preeminencia de uso rápido para el organismo ya que tiene una ventaja energética por la razón que estos son inmediatamente metabolizados por el cuerpo (De los Reyes, 2011, p.7).

Tabla 3-2: Composición nutricional de la panela

COMPONENTE	PANELA	PANELA
VALOR	BLOQUE	GRANULADA
Carbohidratos, g/100g	88,3	97,0
Sacarosa, g/100g	79,4	89,5
Azúcar invertido, g/100g	8,5	6,0
N2 total, g/100g	0,08
Proteínas, g/100g	0,46	0,74
Grasa, g/100g	0,21	0,35
Fibra, g/100g	0,12	0,01
Energía en cal/100g	321,5	377,5
pH	6,1	6,0
humedad, g/100g	7,1	1,9
Ceniza, g/100g	1,29	1,7
Minerales en mg/100g		
Potasio	116,7	535,0
Calcio	172,8	170,0
Magnesio	61,7	29,0
Fósforo	60,4	133,0
Sodio	56,0	23,0
Hierro	5,3	2,5
Manganeso	1,2
Zinc	1,5	2,8
Flúor	5,7
Cobre	0,4	0,6

Fuente: (Carlosama Chamorro, 2009, p.1)

2.2 Cauje (*Pouteria caimito*)

2.2.1 Origen

Abío o cauje (*Pouteria caimito*) es una planta frutal originaria de Brasil, pertenece a la familia de las *sapotáceas*, al género *Pouteria*. De frutos amarillo brillante de sabor dulce y agradable (Love & Paull, 2011: pp.1-6).

2.2.2 Los sinónimos

El caimito de *Pouteria* Radlk. El caimito de *Achras* Benth. El caimito de *Guapeda* Pierre, *Labatia*, caimito de *Lucuma* El Roem & Sch. y *leucophaea* de *Pouteria* Baehni. La familia: *Sapotaceae* (Love & Paull, 2011: pp.1-6).

2.2.3 Medio ambiente

El abiu (cauje) tropical se desarrolla mucho mejor en áreas con un clima cálido y húmedo en todo el año. El suelo tiene que estar húmedo, bien cubierto, y bien drenado, con un pH apenas ácido a neutro. Los árboles darán frutos en Hawái de 100 a 3000 elevación de los pies sobre el nivel del mar. En América del sur, los árboles fructifican hasta 6000 pies sobre el nivel del mar. Los árboles definidos soportaran períodos cortos de sequía, pero en áreas secas en Hawái, o en tiempos de sequía, se requiere riego para producir frutos (Love & Paull, 2011: p.2).

2.2.4 Propagación

(Love & Paull, 2011: p.2) las semillas son de vida corta las mismas que deben ser plantadas en el menor tiempo posible para que germinen. La germinación normalmente toma el tiempo de 50 días después de haber realizado la siembra con una tasa de germinación del 90 por ciento. La técnica de injerto y otras técnicas de expansión vegetativa son a menudo complicadas debido a las grandes cantidades de látex presente en la corteza del tallo. La gran mayoría de las semillas germinadas producirán frutos aceptables, pero, a veces, de menor tamaño que los frutos del árbol padre. Algunos abiu (cauje) brasileños son generalmente de buen tamaño para producir cuando se cultiva a partir de semillas. Por eso es muy importante la selección de las semillas para tener un fruto que alcance un buen tamaño.

2.2.5 Morfología

(Lorenzi, 1998, p.70) Explica que el fruto del cauje es una baya de forma ovalada, brillante y lisa, de 4 a 9 cm de largo. Su pulpa es gelatinosa y dulce, por lo común contiene de 1 a 4 semillas por unidad. Es de color verde oscuro cuando es inmadura y pasa a un tono amarillo brillante cuando el fruto está maduro y listo para ser cosechado.

2.2.6 Producción

(Lorenzi, 1998, p.70) manifiesta que en Brasil florece por los meses de diciembre a enero, mientras que en el Amazonas florece en los meses de agosto a noviembre. Después de la floración los frutos estarán listos para ser cosechado de 2 a 3 meses después de florar. Además, existen registros de árboles de cauje en su fase adulta pueden producir de 100 frutos a 1000 por cosecha.

2.2.7 Valor nutricional

De acuerdo con la composición nutricional del cauje (*Pouteria caimito*), se destaca su alto contenido de Hidratos de carbono, la fibra y proteínas, que son valores muy significativos a comparación de las frutas que consumen habitualmente. Como se aprecia en la tabla 4-2.

Tabla 4-2: Composición del cauje por cada 100g comestible

Inmediato (g)	Las vitaminas (mg)
Agua 61-81.5	Ácido ascórbico 11-49
Calorías 62-95	Tiamina 0.02-0.04
Proteína 0.8-2.1	Riboflavina 0.02-0.03
Lípidos 0.4-1.6	Niacina 1-3.4
Hidrato de carbono 14.5-36.3	Vitamina A 78 IU
Fibra 0.9-3	Glycerides 22g
Ceniza 0.7-0.9	Vitamina B 0.2 mg
	Vitamina B2 0.2mg
	Los aminoácidos
Minerales (mg)	(mg/gN (N 6.25))
Calcio 21-96	Lisina 316
Hierro 0.8-1.8	Metionina 178
Fósforo 17-45	Treonina 219
	Triptófano 57

Fuente: (Love & Paull 2011: p.3)

2.2.8 Taxonomía

Algunos de las características más sobresalientes de la especie *Pouteria caimito* relacionado con la sistemática se parecía en la tabla 5-5.

Tabla 5-2: Clasificación taxonómica del cauje

Nombre Científico:	<i>Pouteria caimito</i> (Ruiz & Pav.) Radlk.
Reino:	Plantae
Subreino:	Tracheobionta
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Dilleniidae
Orden:	Ericales
Familia:	Sapotaceae
Subfamilia:	Chrysophylloideae
Género:	Pouteria
Especie:	Pouteria caimito

Fuente: (Rodríguez & Sánchez, 2005: p.2)

2.2.9 Estado de madurez

El contenido de nutrientes y componentes que protegen las células del organismo frente al estrés oxidativo y la carcinogénesis, fundamentalmente aportan los alimentos de origen vegetal y son los denominados “compuestos bioactivos o funcionales”. La cantidad de estos compuestos bioactivos depende de estado de madurez del fruto y las condiciones ambientales (Ortega, 2020, p.7).

2.2.10 Sólidos totales

La determinación de sólidos totales nos hace referencia a la cantidad existente de la materia seca después de retirar toda la humedad del producto. Este valor obtenido es de gran importancia a nivel económico para el productor de artículos alimenticios por la razón que el agua es señalada

como un relleno de bajo costo y, por otra parte, nos permite la obtención de un sin fin de transformaciones bioquímicas (Nielsen, 2009, p.1).

2.2.11 Humedad

La cantidad de agua presente en el alimento es fundamental controlar debido a que nos permite determinar el tipo de método de conservación al que se va a someter el alimento, también nos da la información necesaria del tiempo de vida de anaquel que tendrá el producto (Nielsen, 2009, p.1) Manifiesta que la humedad es la cantidad agua que existe en todo el alimento. Con fines analíticos se considera la naturaleza de esta en la muestra, encontrándose como agua libre: actúa como agente dispersante para coloides y solvente para sales y otros componentes; agua absorbida: está adherida en las paredes celulares y de la misma forma en las proteínas, por último, tenemos el agua de hidratación: la misma que está ligada químicamente.

2.2.12 Proteína

El elemento más distintivo e importante de las proteínas es el nitrógeno. Sin embargo, la presencia de nitrógeno en algunas proteínas alimenticias puede ser variable entre 13.4% a 19.1% debido a los componentes específicos de sus aminoácidos. Las proteínas en los alimentos tienen funciones importantes a nivel nutricional y funcional, además, su determinación es de suma importancia en cualquier alimento. El método Kjeldahl específico para identificar el nitrógeno proteico y nitrógeno no proteico, lo que se conoce como proteína cruda. La única desventaja de este método es medir el nitrógeno total, porque no solo proviene de las proteínas, y su ventaja es la aplicabilidad a todo tipo de alimentos, su exactitud, precisión y sensibilidad (Nielsen, 2009, p.1).

2.2.13 Fibra

La característica más importante de la fibra es que no es digerible y la fibra abarca a un grupo amplio de carbohidratos. Los carbohidratos de la fibra son por lo general de tipo estructural que proviene de las paredes celulares de los vegetales. Tiene una función importante en la salud de los consumidores, ayudando el normal tránsito digestivo. El método se fundamenta en la eliminación progresiva de los carbohidratos solubles mediante un tratamiento continuo con ácido y álcali, anteriormente eliminadas el agua y la grasa para evitar las interferencias. Como resultado se obtiene únicamente la fibra cruda o insoluble. Para corregir los resultados es necesario incinerar la muestra y descontar el aporte de las cenizas (Nielsen, 2009, p.1).

2.2.14 Carbohidratos Totales

Los compuestos orgánicos más abundantes en la naturaleza son los carbohidratos. En su metabolismo su función es aportar la energía, motivo por el cual, su presencia en un alimento es importante. Hay diferentes métodos para la identificar los hidratos de carbono, varios de los cuales son específicos para un alimento en particular debido a su composición (USDA, 1997, p.1) Manifiesta en su reglamento para el etiquetado nutricional de los alimentos nos dice que el contenido total de carbohidratos debe ser calculado por diferencia, tomando en cuenta los pesos de la humedad, ceniza, proteína y grasa sobre el peso total del alimento y/o materia prima.

2.2.15 Consideraciones postcosecha

La maduración se lleva a cabo de 1 a 5 días después de la cosecha del fruto, cuando la piel y la pulpa de la fruta no hay rastro de látex pegajoso. La fruta puede ser almacenado a una temperatura menor a los 10°C con una vida útil de 7 a 14 días, si hay la posibilidad de aplicar atmosferas modificadas para detener el proceso de maduración ya que el cauje es un fruto climatérico. En todo instante durante la actividad de cosecha y postcosecha, el fruto tiene que ser protegido de golpes y magullados ya que esto afecta a la calidad del producto final. Hay protocolos determinados por la USDA que permiten tratar al cauje con irradiación para alargar su vida de anaquel y ser exportados (Love & Paull, 2011: p.2).

2.2.16 Coste de producción

Es muy importante que los agricultores establezcan los costos de producción tomando en cuenta todas las actividades que envuelven estas actividades del cultivo del cauje. Incluir todas las variables es muy importante para que la producción tenga la remuneración adecuada, sin que afecte económicamente al productor y de esta manera tenga utilidad la finca productora. Tomar en cuenta todos los costos fijos y variables que están presentes en la producción del cauje (Love & Paull, 2011: p.4).

2.2.17 Usos y recetas

El cauje generalmente se usa fresco, a veces en ensaladas con otros frutos. La pulpa madura se puede agregar a jugos, mermeladas y yogur, además, se puede utilizar la pulpa para ser procesada en almíbar (Love & Paul, 2011: p.3).

CAPÍTULO III

3 MARCO METODOLÓGICO

3.1 Localización y duración del experimento

El presente trabajo se desarrolló en la Facultad de Ciencias Pecuarias, de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (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.

El tiempo de duración del presente trabajo de investigación, fue aproximadamente de 60 días.

3.2 Unidades experimentales

La unidad experimental estuvo conformada por 1 litro de bebida funcional en un total de 16 litros, la misma que se distribuyó en 4 tratamientos con 4 repeticiones.

3.3 Materiales, equipos e insumos

3.3.1 *Materiales*

- Guantes
- Mascarilla
- Mandil
- Cofia
- Probeta
- Vaso de precipitación
- Pipetas
- Cajas Petri
- Micropipetas
- Mechero Bunsen
- Frascos de vidrio
- Tubos de ensayo
- Gradilla para tubos

- Frascos Erlenmeyer
- Soporte universal
- Barra de agitación
- Espátula
- Pinzas
- Crisoles de porcelana
- Papel filtro
- Placas cobre y porta objetos
- Mortero
- Ollas
- Embudos
- Jarras plásticas
- Marcador
- Fundas ziplox
- Matraces Kjeldahl, de 500 ml y 800 ml de capacidad
- Aparato de digestión
- Aparato de destilación
- Los tubos de conexión

3.3.2 *Equipos*

- Balanza analítica
- Cabina de flujo laminar
- Equipo de titulación
- pH-metro
- Refractómetro
- Autoclave
- Estufa
- Refrigerador
- Agitador magnético
- Cuenta colonia
- Microscopio
- Reverbero eléctrico
- Equipo de Kjeldahl

3.3.3 *Insumos*

- Fenolftaleína
- NaOH 0,1 N
- Hongos Tibetanos
- Solución Buffer
- Agua destilada
- Alcohol 92°
- Fruta (Cauje)
- Agar (MacConkey, PDA, PCA, MRS)
- Ácido Sulfúrico
- Ácido Bórico
- Granallas de Zinc
- Catalizadores para Kjeldahl
- Ácido clorhídrico

3.4 Tratamientos y diseño experimental

3.4.1 *Tratamientos*

Se evaluó la bebida funcional por efecto de la utilización de diferentes niveles de pulpa de cauje 10, 20 y 30%, para ser comparado con un tratamiento control el cual contiene el 10% de panela, por lo que se contó con 4 tratamientos experimentales, cada uno de ellos con 4 repeticiones como se detalla en la tabla 6-3.

Tabla 6-3: Esquema del experimento

Tratamientos	Código	Repeticiones	T.U.E (L)	Total
10% de panela	T0	4	1	4
10% Pulpa de cauje	T1	4	1	4
20% Pulpa de cauje	T2	4	1	4
30% Pulpa de cauje	T3	4	1	4
Total, litros de bebida funcional				16

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

Realizado por: Moreno, Freddy, 2022

3.4.2 *Diseño Experimental*

Las unidades experimentales se distribuyeron bajo un diseño completamente al azar (DCA) y que para su análisis se ajustó al siguiente modelo lineal aditivo:

$$Y_{ij} = u + T_i + E_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} : valor estimado de la variable

u : media general

T_i : efecto de diferentes niveles de pulpa de cauje

E_{ij} : Error experimental o efecto de la aleatorización de los tratamientos en el campo experimental.

3.5 Mediciones experimentales

3.5.1 *Caracterización de la fruta de cauje*

- % Humedad
- Azúcares fermentescibles (°Brix)
- % Proteína
- % Fibra

3.5.2 *Análisis Físicoquímicos*

- pH
- Acidez (g/L)
- Sólidos solubles (°Brix)

3.5.3 *Análisis microbiológico*

- Conteo de bacterias ácido-lácticas (UFC/ml)
- Recuento de aerobios mesófilos (UFC/ml)
- Recuento de mohos y levaduras (UFC/ml)

3.5.4 *Análisis sensorial*

- Color
- Olor
- Sabor

3.5.5 *Análisis económico*

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

3.6 **Análisis estadísticos y pruebas de significancia**

Para el presente trabajo se usó los siguientes análisis estadísticos:

- Análisis de varianza (ADEVA)
- Estadística descriptiva con medidas de tendencia central y de dispersión
- Separación de medias según DUNCAN ($P \leq 0,01$)
- Prueba de Friedman (Prueba no paramétrica)

Tabla 7-3: Esquema del ADEVA

Fuente de variación	GL
Total	15
Tratamientos	3
Error	12

Realizado por: Moreno, Freddy, 2022

3.7 **Procedimiento experimental**

3.7.1 *Elaboración de la pulpa de cauje*

En la tabla 8-3, se puede apreciar el porcentaje de adición de los ingredientes, los mismo valorados en porcentaje, de acuerdo con el tratamiento establecido, para 1 Litro de bebida, como unidad experimental.

Tabla 8-3: Formulación de la bebida funcional a base de diferentes niveles de cauje

Ingredientes (%)				Total (%)
Pulpa de cauje	Agua	Kéfir	Panela	
0	73,5	16,5	10	100
10	73,5	16,5	0	100
20	63,5	16,5	0	100
30	53,5	16,5	0	100

Realizado por: Moreno, Freddy, 2022

- **Recepción:** se recepcionó la materia prima (cauje).
- **Selección:** se eliminó los frutos que no se encuentren condiciones óptimas para el uso (golpeadas, partidas).
- **Lavado:** se procedió a lavar la fruta con agua potable por inmersión con la finalidad de retirar cualquier tipo de partículas o sustancias ajenas al cauje.
- **Descortezado:** Con un cuchillo se cortó por la mitad del fruto en forma vertical, tratando de evitar lastimar la pepa.
- **Retiro de la semilla:** retiramos la/las semillas.
- **Extracción de la pulpa:** con una cuchara se extrajo la pulpa con mucho cuidado para no retirar con corteza.
- **Escaldado:** en una olla se colocó agua, una vez esta esté en ebullición se procedió a agregar pulpa de cauje y se dejó que hierva durante 3 minutos posterior a eso se le escurrió y se sumergió en agua fría.
- **Licuada:** en una licuadora se agregó la pulpa de cauje y se procedió a licuar hasta obtener una pasta homogénea
- **Tamizado:** con un colador o tamiz se procedió a filtrar la pulpa de cauje con la finalidad de obtener la pulpa sin las semillas.
- **Pasteurización:** se colocó en una olla la pulpa y se colocó en fuego hasta que ebulle y se la dejó por 3 minutos.
- **Enfriamiento:** en el recipiente se dejó enfriar la pulpa durante un determinado tiempo.
- **Envasado:** se procedió a envasar en fundas ziploc con cuidado sin manchar los bordes.
- **Almacenamiento:** se colocó la pulpa de cauje en el refrigerador para conservarla hasta proceder a su utilización.

3.7.2 *Elaboración de la bebida a base de pulpa de cauje*

- Se recepcionó la pulpa de cauje.
- **Mezclado:** se procedió a sumergir la pulpa de cauje en las cantidades ya establecidas con agua purificada.
- **Homogenización:** se procedió a mezclar bien cada envase con la bebida que tiene diferentes concentraciones de la pulpa.
- **Esterilización:** cada envase con 1000 ml de producto se llevó a esterilizar en la autoclave.
- Para la elaboración de la bebida del tratamiento control (panela), se realizó el mismo procedimiento, solo cambia la panela que se agregó en vez de la pulpa de cauje.

3.7.3 *Inoculación de la bebida*

- **Inoculación:** La inoculación del kéfir de agua se lo llevó a cabo en condiciones asépticas a temperatura ambiente.
- **Fermentación:** Se la realizó por 48 horas a temperatura ambiente de la ciudad de Riobamba (14 °C).
- **Almacenamiento:** una vez obtenida la bebida se procedió a mantener a una temperatura de refrigeración.

3.8 Metodología de evaluación

3.8.1 *Caracterización de la fruta de cauje*

3.8.1.1 *Humedad*

(Bonilla, 2016, p.11) El método AOAC se basa en la determinación gravimétrica de pérdida de masa de la muestra hasta que alcanza una masa constante en la estufa de aire.

Se pesaron 3 g de muestra la cual fue secada en una estufa de aire caliente, durante tres horas a 105 °C, posteriormente se enfrió en un desecador para poder pesarla y registrar el resultado.

3.8.1.2 *Azúcares totales y fermentescibles*

Para el análisis de azúcares totales a las frutas se utilizó el refractómetro, para cumplir con los requisitos que establece la norma (NTE INEN, 2337, 2008, p.2).

- Colocar una pequeña cantidad de pulpa de cauje el prisma del refractómetro.
- Cerrar la tapa suavemente y observar a través de la mirilla
- Registrar el valor

3.8.1.3 *Proteína*

Para el análisis de proteína a las frutas se utilizó el método Kjeldahl para cumplir con los requisitos que establece la norma (INEN 16, 2015, pp.2-8).

- Digestión.
- Añadir 300 ml de agua en los matraces Kjeldahl de 500 ml o 400 ml.
- Destilación.
- Titulación.
- Ensayo en blanco.
- Cálculos.

3.8.1.4 *Fibra*

Se aplicó el procedimiento gravimétrico basado en el método AOAC: 962.09 (Bonilla, 2016, p.12).

- Pesar de 2 a 3 g de muestra seca,
- Colocar en el matraz,
- Adicionar 200 ml de H₂SO₄ 0,1N en ebullición.
- Colocar el condensador y se dejar hervir durante 30 minutos, mantener constante el volumen con agua destilada y agitar periódicamente el matraz para remover las partículas adheridas a las paredes.
- Filtrar al vacío lavando los residuos de la muestra con agua hirviendo.
- Transferir el residuo al matraz.
- Añadir 200 ml de NaOH 0,1 N en ebullición y se dejar hervir por 30min.
- Luego de reposar, filtrar cuidadosamente y lavar el residuo varias veces alternando el agua hirviendo con la solución de HCl y nuevamente con el agua hirviendo.
- Pesar los crisoles desecados previamente a 105°C por 12 horas.
- Colocar el residuo obtenido y se llevar a la mufla durante 3 horas a 550°C.
- Terminado el ciclo y una vez enfriados, los crisoles pesar nuevamente.
- Realizar los cálculos.

3.8.2 Análisis de la bebida funcional

3.8.2.1 Análisis Fisicoquímicos

Para la evaluación de los parámetros fisicoquímicos se tomó como referencia la norma (NTE INEN 1101, 2017, p.2) que se basa en los requisitos, para las bebidas gaseosas.

3.8.2.1.1 pH

El pH se determinó basándose en la norma técnica (NTE INEN-ISO 1842, 2013, pp.3-4). Para la medición del pH se requiere del pH-metro una escala graduada en 0,05 unidades, antes de esto se debe calibrar al pH-metro.

- Se tomará 2 ml de muestra.
- Añadirá 10mL de agua destilada.
- Homogenizar la muestra.
- Filtrar con la ayuda de un papel filtro.
- Una vez culminado el proceso de filtrado y calibrado se procede a medir el pH (NTE INEN-ISO 1842, 2013, pp.3-4).

3.8.2.1.2 Acidez titulable

La acidez titulable se determinó, mediante el método volumétrico, con base en la norma (NTE INEN-ISO 750, 2013, p.2).

- Se tomará con una pipeta 5 ml de muestra a un Erlenmeyer que contenga 20 ml de agua destilada.
- Agregar 2 a 3 gotas de fenolftaleína.
- Titular con NaOH 0.1N hasta obtener la coloración rosada.
- Registrar el volumen que se ha consumido.
- Repetir (muestra por duplicado) (NTE INEN 381, 1985, pp.1-4).

3.8.2.1.3 Sólidos Solubles

Para el contenido de sólidos solubles totales (°Brix) se utilizó un refractómetro digital teniendo como referencia la norma (NTE INEN 380, 1985, pp.1-4).

- Para este ensayo se debe hacer por duplicado por cada muestra.
- Colocar una pequeña cantidad de muestra de jugo en el prisma del refractómetro.
- Cerrar la tapa suavemente y observar a través de la mirilla
- Registrar los resultados (NTE INEN 380, 1985, p.4).

3.8.2.2 *Análisis Microbiológico*

Para los análisis microbiológicos, se tomó en cuenta la norma (NTE INEN 2395, 2011, pp.3-4) en el que se basa en los requisitos de las leches fermentadas.

3.8.2.2.1 *Conteo de bacterias ácido-lácticas*

Para realizar este ensayo se aplicó la (INEN 1529-5, 2006, pp.3-6) para lo cual se usó el agar MRS (Man, Rogosa y Sharpe) el mismo que brinda los nutrientes adecuados que las bacterias ácido lácticas se multipliquen de forma óptima.

3.8.2.2.2 *Aerobios Mesófilos*

Dentro de este grupo de microorganismos se encuentran bacterias, mohos y levaduras capaces de desarrollarse en 33-37°C en un medio nutritivo, incluso se puede encontrar estos microorganismos de forma natural como son los productos lácteos fermentados, pero recuentos elevados no es lo recomendable, solo si es un alimento obtenido por fermentación (Renaloe, 2014, p.5). Para el recuento de aerobios mesófilos se usó la técnica descrita en la norma (INEN 1529-6, 1990, pp.3-6).

3.8.2.2.3 *Coliformes Totales*

Recordemos que este tipo de bacterias se los encuentra en el agua, en el aire, en el suelo y en el intestino de animales y humanos, donde, los más comunes se encuentra *E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Citrobacter* (Sotil, 2017, pp.15-16). Para su identificación se aplicó la norma (INEN 1529-5, 2006, pp.2-7).

3.8.2.2.4 *Mohos y levaduras*

Para el recuento de mohos y levaduras se usó la norma (INEN 1529-10, 2013, pp.2-4). Para realizar este recuento se utilizó el método descrito en la norma (INEN 1529-2, 1999, pp.5-17), la misma que nos explica cuál es el procedimiento adecuado para la toma de muestra, traslado de la muestra, recepción y almacenado en el laboratorio.

3.8.2.3 *Análisis sensorial*

(Hernández, 2005, pp.45-46) Para estos ensayos se realizaron mediante la prueba afectiva hedónica escalar, con jueces no entrenados, con el objetivo de conocer la aceptación de la bebida funcional en la cual los atributos a evaluar fueron los siguientes:

- Color
- Olor
- Sabor

Los panelistas evaluaron los parámetros, por medio de una escala hedónica, con un rango de 1 a 5 en donde:

- ❖ 5= Excelente
- ❖ 4= Muy bueno
- ❖ 3= Bueno
- ❖ 2 =Regular
- ❖ 1= Malo

3.8.2.4 *Análisis económico*

3.8.2.4.1 *Costo de producción*

Para calcular el costo de producción se sumó el total de todos los costos y gastos generados en la elaboración de la bebida funcional a base de pulpa de cauje y kéfir, estos a su vez fueron divididos para la cantidad total obtenida en cada tratamiento.

3.8.2.4.2 *Beneficio/Costo (B/C)*

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

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

CAPÍTULO IV

4 MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1 Caracterización de la fruta de cauje

Tabla 9-4: Caracterización de la pulpa de cauje

Variable	n	Media	D.E.	Mínimo	Máximo
Humedad (%)	4	81,1 ±	0,42	80,76	81,7
Azúcares totales (%)	4	10,58 ±	0,3	10,2	10,9
Proteína (%)	4	1,03 ±	0,13	0,85	1,17
Fibra (%)	4	1,13 ±	0,14	0,97	1,31

D.E.: Desviación Estándar

Realizado por: Moreno, Freddy, 2022

4.1.1 Humedad

La humedad del cauje (*Pouteria caimito*) presenta un valor de $81,1 \pm 0,42\%$, como se aprecia en la tabla 9-4, este valor es similar a lo reportado por (Love & Paul, 2011: p.3) quien obtuvo un valor de humedad de 61 – 81,5%.

4.1.2 Azúcares Totales

Al medir el contenido de azúcares totales o fermentables del cauje (*Pouteria caimito*), se obtuvo un valor de $10,58 \pm 0,3\%$, como se puede apreciar en la tabla 9-4, este resultado difiere a lo reportado por (Fortunato et al., 2021: p.1484) quien obtuvo un valor de $9,19 \pm 0,32\%$.

4.1.3 Proteína

La proteína del cauje (*Pouteria caimito*) presenta un valor de $1,03 \pm 0,13\%$, como se observa en la tabla 9-4, siendo superior a lo reportado por (López & Amaral, 2014: pp.1415-1419) con un valor de 0,81%, pero menor a lo alcanzado por (Ortega, 2020, p.36) quien obtuvo un valor de 2,02 – 2,16%.

4.1.4 Fibra

El cauje (*Pouteria caimito*) presenta un contenido de fibra cruda de $1,13 \pm 0,14\%$ como se observa en la tabla 9-4, este valor es menor a lo reportado por (López & Amaral, 2014: pp.1415-1419) quien obtuvo un valor de 1,69%.

4.2 Análisis Bromatológico de la bebida funcional

Los resultados encontrados en los análisis bromatológicos de la bebida funcional en la que se utilizaron diferentes niveles de pulpa de cauje 10, 20 y 30% se reportan en la tabla 10-4, las mismas que se analizan a continuación.

Tabla 10-4: Composición bromatológica de la bebida funcional elaborada con diferentes niveles de pulpa de cauje

Tiempo	VARIABLES	Niveles de Pulpa de cauje (%)				E.E	PROB.	C.V
		0	10	20	30			
Inicial	Acidez (g/L ácido láctico)	0,97a	0,20c	0,79b	0,77b	0,03	<0,0001	8,75
	Sólidos solubles (°Brix)	10,38a	1,00d	2,45c	3,50b	0,1	<0,0001	4,79
	pH	5,50a	5,53a	4,98b	5,00b	0,09	0,0011	3,54
48 horas	Acidez (g/L ácido láctico)	3,60a	1,04c	1,665b	1,64b	0,12	<0,0001	12,46
	Sólidos solubles (°Brix)	7,25a	0,33c	0,60c	1,03b	0,1	<0,0001	8,37
	pH	3,28b	3,13b	3,20b	3,48a	0,05	0,0041	3,33

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 Duncan ($p > 0,05$)

Realizado por: Moreno, Freddy, 2022

4.2.1 Acidez (g/L ácido láctico)

La acidez de la bebida funcional presenta diferencias altamente significativas por efecto de los diferentes niveles de pulpa de cauje al inicio y a las 48 horas de fermentación, encontrándose que,

al emplear el tratamiento control presenta la acidez más alta con 0,97 a 3,6 g/L, sin embargo, cuando se empleó el 10% de pulpa de cauje la acidez disminuyó en 0,2 a 1,04 g/L como se observa en la tabla 10-4. De acuerdo con el análisis de la regresión se estableció una tendencia cúbica, donde al emplear el 10% de pulpa de cauje la acidez disminuye, seguido de un aumento con el 20% y a partir de niveles superiores de pulpa de cauje tiende a disminuir (Ver ilustración 1-4). Esto puede ser efecto del estado de madurez del cauje, debido a que, mientras madura la fruta, la acidez disminuye y se vuelve más dulce, porque, el pH aumenta en la fruta, puede ser que, al elaborar la bebida, se utilizó alguna fruta que no estuviera completamente madura y provocara que la acidez aumentara o lo contrario, que la fruta estuvo demasiado madura (Gottau, 2017, p.1). Este resultado es menor a lo reportado por (López et al., 2017: pp.405-414) quienes realizaron una investigación basada en el “estudio de la fermentación del kéfir de agua de piña con tibicos”, utilizando 12,5 g azúcar mascabada, 2 g piña, 12 g tibicos durante un periodo de 53 horas obteniendo un valor de 4,7 g/L ácido láctico. Las diferencias que se generan, se debe al sustrato, en el cual se fermenta el kéfir, siendo así que (Fernandez et al., 2019: pp.645-651) en su investigación donde utilizó los gránulos de kéfir de leche y de agua, utilizando como sustrato leche entera UHT, coco, arroz y soja, mostraron variaciones en la acidez desde 0,26 g/L (arroz) hasta 2,78 g/L (leche UHT) en kéfir de agua, esto nos demuestra que si variamos el medio donde se realiza la fermentación, se generan cambios en su composición química. Hay que destacar que la bebida en referencia a la acidez se encuentra dentro del rango máximo aceptable de acuerdo con la norma (NTE INEN 1101, 2017, p.2). Es así como, como se observa en la ilustración 1-4, a medida que transcurre el tiempo, la acidez es mayor con respecto a la inicial.

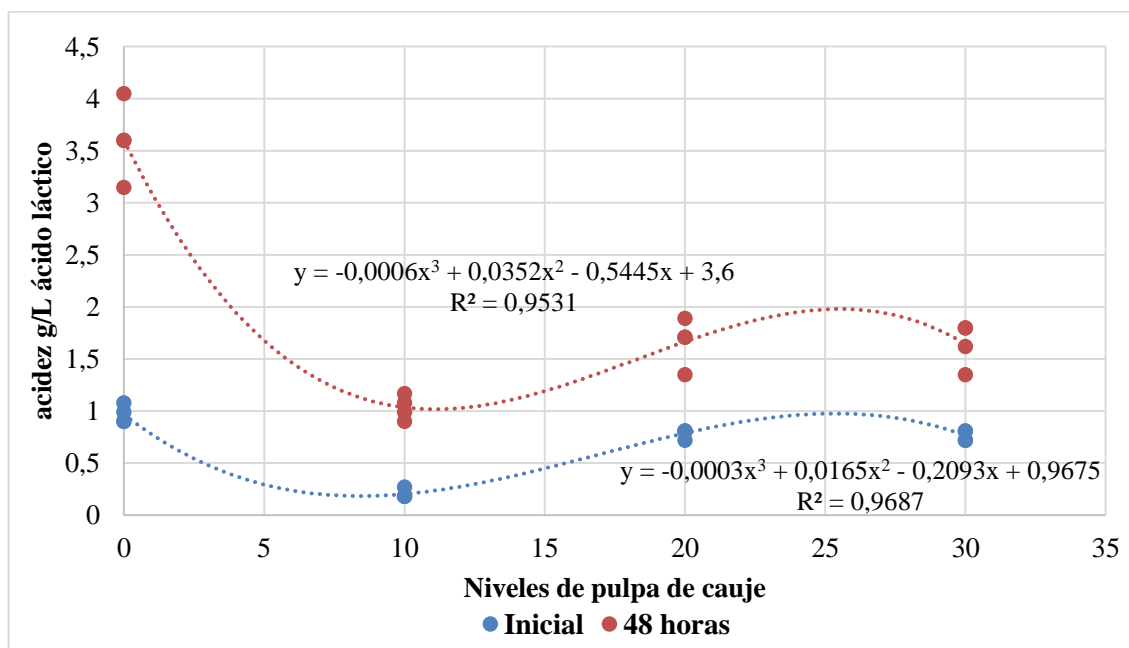


Ilustración 1-4: Acidez de la bebida funcional elaborada con diferentes niveles de pulpa de cauje

Realizado por: Moreno, Freddy, 2022

4.2.2 pH

El pH de la bebida funcional presenta diferencias altamente significativas al inicio y a las 48 horas de fermentación, por efecto de los diferentes niveles de pulpa de cauje, registrándose el valor más alto al emplear el 0 y 10% de pulpa de cauje con 5,50 y 5,53 respectivamente, sin embargo, cuando se utilizó el 20 y 30% el pH disminuyó a 5 al inicio del proceso fermentativo. En cambio, a las 48 horas de fermentación, se estableció que, al utilizar el 30% pulpa de cauje el pH aumenta en 3,48, a diferencia de usar el 0, 10 y 20% de pulpa de cauje, porque, el pH disminuye a 3,28, 3,13 y 3,20 respectivamente (ver tabla 10-4). De acuerdo al análisis de la regresión, se estableció una tendencia cúbica al inicio de la fermentación, donde, al emplear el 10% de pulpa de cauje provoca un aumento en el pH seguido por una disminución con el 20% y a partir de niveles superiores nuevamente aumenta, en cambio, a las 48 horas de fermentación presenta una tendencia cuadrática, siendo así que, al emplear el 10% de pulpa de cauje provoca una disminución en el pH, y a partir de niveles superiores el pH aumenta, como se observa en la ilustración 2-4. Esto ocurre por el pH propio del sustrato, debido a que, la panela su pH varía de 4,9 a 5,6 (Mosquera et al., 2007: p.23) siendo más ácido que el mismo cauje, el cual presenta un valor de 5,7 (Gómez, 2016, p.35), estos resultados difieren con otras investigaciones como son (Dwiloka, et al., 2020: p.351; Zongo et al., 2020: p.5) quienes utilizaron palma (*Borassus aethiopum*), coco (*Cocos nucifera* L.) y fermentaron con kéfir de agua, obteniendo valores de pH de 4,07 y 3,68, en 48 horas de fermentación, las diferencias se deben básicamente al sustrato utilizado, debido a que, presentan un pH propio antes de ser fermentado, además, influye de forma significativa la temperatura y la concentración del inóculo inicial, según (Dadkhah et al., 2011: pp.293-299) para obtener un pH de 4,5-4,6 variaron la temperatura y el inóculo inicial, es así que, con el 4% inóculo a 25°C, llegaron a este valor en 16 horas, en cambio al utilizar el 2% de nódulos de kéfir a 22°C, llegaron a este resultado después de 24 horas, confirmando que estos factores afectan directamente en el valor final del pH en la bebida. Hay que destacar que el pH de la bebida se encuentra dentro del rango máximo aceptable de acuerdo con la norma (NTE INEN 1101, 2017, p.2).

De acuerdo a la ilustración 2-4, se aprecia que el valor final de pH, está en un rango de 3,13 a 3,48, esto nos confirma lo que menciona (Alves et al., 2021: p.1057) quien dice que, a las primeras 24 horas se genera un descenso de pH de 4,5, seguido por un estado en equilibrio de aproximadamente 3,9 en 42 horas, demostrando que llegará un punto en el que se estabilice el valor de pH en todos los tratamientos, esto se debe a que tanto la variación del pH y la acidez genera un efecto indirecto en la actividad biológica del kéfir, debido a que, las BAL presentan una alta sensibilidad a valores bajos de pH, lo que ocasiona su declive, llegando a ser la principal razón por la cual la bebida no se vuelve más ácida (Kim & Liu, 2006: pp.1731-1737).

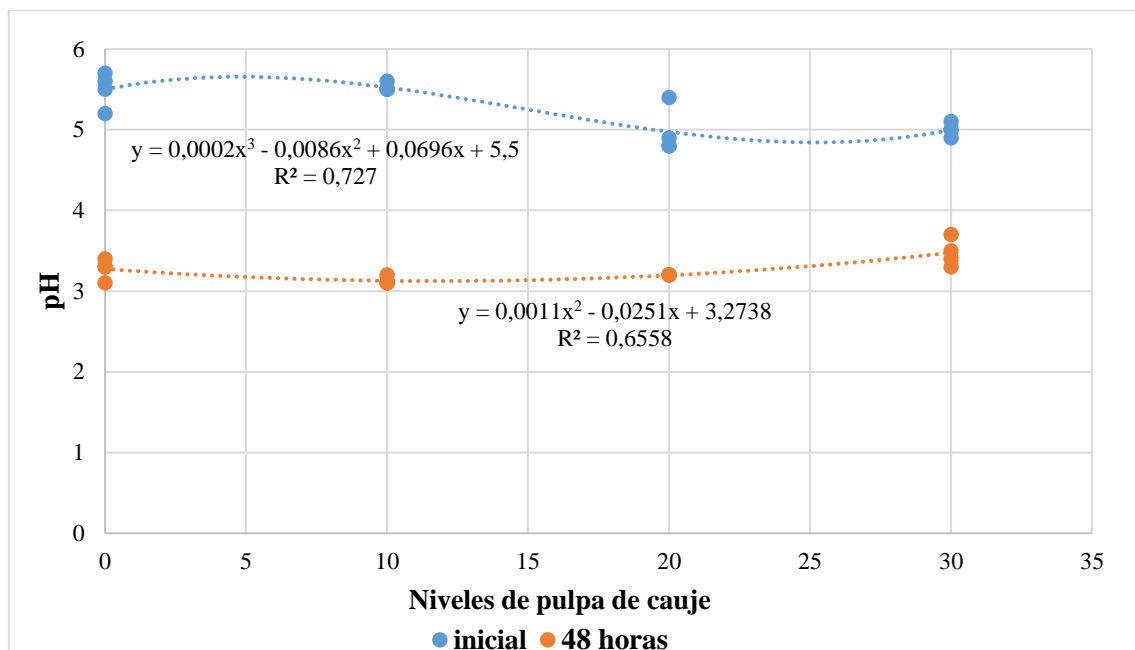


Ilustración 2-4: pH de la bebida funcional elaborado con diferentes niveles de pulpa de cauje

Realizado por: Moreno, Freddy, 2022

4.2.3 Sólidos Solubles

Los sólidos solubles de la bebida funcional presentan diferencias altamente significativas al inicio y a las 48 horas de fermentación, por efecto de los diferentes niveles de pulpa de cauje, encontrándose que, al utilizar el tratamiento control presenta el valor más alto al inicio y a las 48 de fermentación con 10,38 y 7,25 °Brix respectivamente, sin embargo, cuando se emplea el 10% de pulpa de cauje los sólidos solubles disminuyen de 1 a 0,33 °Brix, como se observa en la tabla 10-4, de acuerdo al análisis de la regresión se estableció una tendencia cúbica, en donde, al emplear el 0% de pulpa de cauje aumenta los sólidos solubles, seguido por una disminución con el 10% y a niveles superiores genera nuevamente un incremento (ver ilustración 3-4). Esto se produce por la cantidad de sólidos solubles de cada sustrato, es así como, la panela presenta un valor 78,57 °Brix (Romero et al., 2017: p.38), en cambio, el cauje contiene 17,50 °Brix (Fortunato et al., 2021: p.1484) siendo inferior a la panela, además, hay que destacar que la pulpa de la fruta al ser diluida en agua se reduce su valor, pero mientras se aumenta su concentración en cada tratamiento, este valor aumenta. Al comparar los resultados con (Monroy et al, 2017: pp.40-43) quienes evaluaron la incidencia del tipo de sustrato (panela y melaza) con la concentración del inóculo inicial (gránulos de kéfir) en una bebida fermentada, llegaron a obtener el consumo más alto al utilizar panela con 200 g de tибicos obteniendo 11,05 °Brix, de la misma forma, al utilizar la melaza con la misma proporción del inóculo inicial, obtuvieron 6,68 °Brix, muy superior a lo obtenido en la investigación, además, resaltan que, dependiendo el sustrato y la cantidad de nódulos de kéfir, el consumo de azúcares variará al final de la fermentación. De la misma forma (Tirado & Zambrano,

2021: pp.34-64) quienes utilizaron biocompuestos de la hierba luisa y chaya fermentando una bebida con diferentes concentraciones de nódulos de kéfir, obteniendo el mejor resultado al utilizar el 5% de hierba luisa y el 6% de kéfir obteniendo 5,5 °Brix a los 3 días de fermentación, siendo muy superior a lo obtenido en la investigación. Las variaciones se generan por factores como la temperatura, es así que (Kania, 2017, pp.65-66) elaboró una bebida fermentada a base de té negro y kéfir de agua, donde vario la concentración de sacarosa y la temperatura, destacando que, a mayor temperatura se obtiene mayor reducción de sólidos solubles. Así mismo, el tiempo juega un papel importante en el consumo de azúcares, es por ello por lo que (Buranelo et al., 2022: p.4) quienes variaron el tiempo de fermentación, la biomasa de kéfir y la concentración de leche de soya, llegaron a la conclusión que, mientras mayor tiempo de fermentación, mayor consumo de sólidos solubles. Hay que recalcar que la bebida se encuentra dentro del parámetro aceptable para sólidos solubles de acuerdo con la norma (NTE INEN 1101, 2017, p.2).

De acuerdo con la ilustración 3-4, los sólidos solubles de la bebida funcional a las 48 horas de fermentación, es menor en comparación al valor inicial.

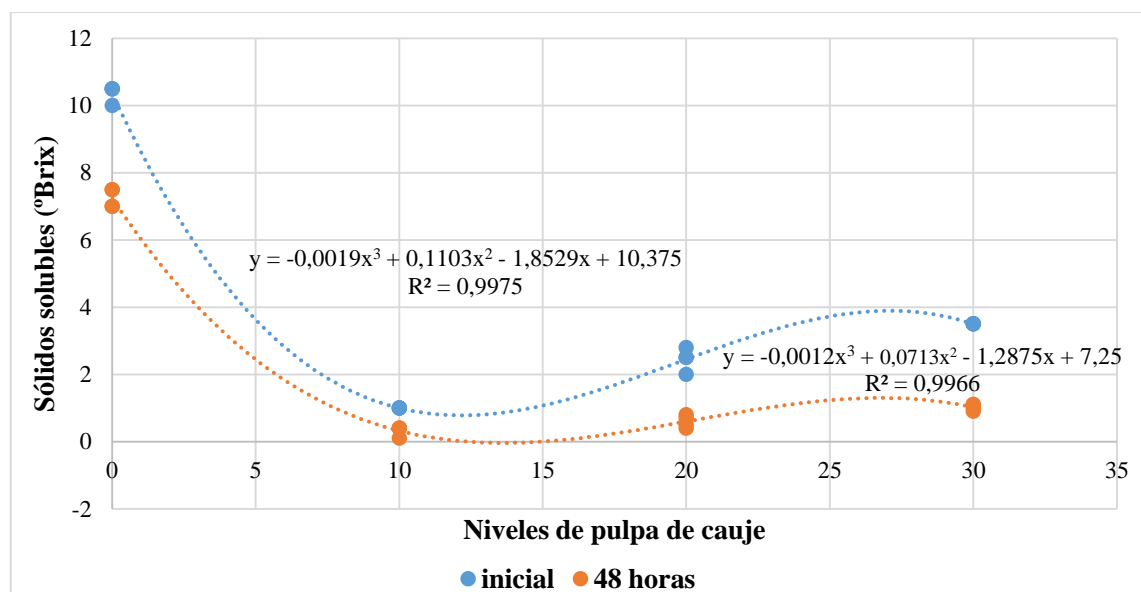


Ilustración 3-4: Sólidos Solubles de la bebida funcional elaborada con diferentes niveles de pulpa de cauje

Realizado por: Moreno, Freddy, 2022

4.3 Análisis Microbiológico de la bebida funcional

Los análisis microbiológicos se realizaron a las 48 horas de fermentación en la bebida funcional elaborada con diferentes niveles de pulpa de cauje, en el laboratorio de Biotecnología y Microbiología Animal, es así como en la tabla 11-4, se aprecia el crecimiento microbiano en cada tratamiento, la significancia y el error estándar.

Tabla 11-4: Análisis microbiológico de la bebida funcional elaborado con diferentes niveles de pulpa de cauje

Variables	NIVELES DE PULPA DE CAUJE				P-Valor	E.E
	T0	T1	T2	T3		
	0%	10%	20%	30%		
Coliformes totales	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia	-	-
Bacterias acido lácticas	3,38X10 ⁸ a	2,35X10 ⁹ a	3,75X10 ⁹ a	1,11X10 ⁹ a	0,0756	8,69X10 ⁸
Mohos	ausencia	ausencia	ausencia	ausencia	-	-
Levaduras	7,92X10 ⁸ a	1,79X10 ⁸ a	1,51X10 ⁸ a	1,86 X10 ⁹ a	0,055	4,37 X10 ⁸
Aerobios mesófilos	1,68X10 ⁶ b	4,60X10 ⁶ a	5,20X10 ⁶ a	6,40X10 ⁶ a	0,0145	870X10 ⁵

E.E.: Error estándar

PROB. >0,05: No hay diferencias significativas

PROB. <0,05: Hay diferencias significativas

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

Realizado por: Moreno, Freddy, 2022

4.3.1 Coliformes Totales

La bebida funcional elaborada con diferentes niveles de pulpa de cauje, no se evidenció la presencia de Coliformes totales en ningún tratamiento, existen muchos motivos por los cuales no existe la presencia de estos microorganismos, por el proceso de elaboración en el que se realizó de forma higiénica, de la misma forma, por el proceso fermentativo, debido a que exhibe la presencia de ácidos orgánicos como es el láctico, acético, provocando la disminución del pH a valores por debajo de 3,5 ejerciendo un mecanismo de protección contra agentes externos (Iraporda et al., 2017: pp.339-345), de acuerdo a la (OMS, 2018, p.1) la *Escherichia coli* no resiste a pH menores a 4,4 por lo que la presencia de estos microorganismos es casi nula, su presencia en este tipo de bebida, afirma que existe alguna acción antihigiénica que pone en riesgo el producto.

4.3.2 Bacterias Ácido-lácticas (Probióticas)

Las bacterias ácido-lácticas no presentan diferencias estadísticas por efecto de los diferentes niveles de pulpa de cauje, encontrándose que, al emplear el 20% de pulpa de cauje se obtiene el mayor valor numérico con $3,75 \times 10^9$ UFC/ml, en cambio, al utilizar el tratamiento control, se obtiene el menor valor numérico con $3,38 \times 10^8$ UFC/ml como se observa en la tabla 11-4. De acuerdo con el análisis de la regresión se estableció una tendencia cuadrática, a medida que aumenta los niveles de pulpa de cauje las bacterias probióticas aumentan, pero a partir del 30% empieza a disminuir (ver ilustración 4-4). Esto se genera por el crecimiento de las levaduras, que de forma indirecta al producir CO₂, inhibe el crecimiento de varias bacterias ácido-lácticas, al bloquear el metabolismo respiratorio de este tipo de bacterias (Hyun, 2018, pp.1234-1242), como se puede observar en la ilustración 4-4 y 5-4, mientras mayores niveles de bacterias lácticas menor crecimiento de levaduras y viceversa. Este resultado es superior a lo reportado por (Bolaños, 2014, p.29) quien elaboró una bebida a base de kéfir para corroborar si es un alimento probiótico, utilizando 150 g gránulos de kéfir, 30 g panela, con una fermentación de 48 horas de 20-25°C, obteniendo un crecimiento de bacterias probióticas de $2,4 \times 10^7$ UFC/g, por otra parte, se asemejan a lo investigado por (Monar et al., 2014: pp.60-66) quien evaluó 2 variables, tipo de endulzante (panela, miel de abeja y azúcar granulada), en diferentes tiempos de fermentación (24, 48 y 72 horas), siendo el mejor resultado al utilizar miel de abeja en 48 horas de fermentación, en un ambiente micro-aerofílico a 37°C obteniendo valores de $3,2 \times 10^9$ - $4,1 \times 10^9$. Las diferencias ocurren por el origen geográfico de los granos de kéfir, esto está relacionado de forma directa con las condiciones climáticas (Garofalo et al., 2020: pp.86-95), además, la composición de la microflora puede diferir por el sustrato utilizado, el proceso de fermentación, el método de mantenimiento del cultivo (Tiempo de fermentación, temperatura, grado de agitación y proporción de granos de kéfir a sustrato) (Triwibowo et al., 2020: p.1444; Talib et al., 2019: p.2606). Hay que destacar que todos los tratamientos se ubican por encima del rango mínimo permitido (1×10^6) para categorizarse como un alimento probiótico de acuerdo con la norma (NTE INEN 2395, 2011, pp.3-4).

El crecimiento tan elevado de bacterias probióticas se debe a la misma composición microbiológica de la bebida, recordemos que las especies que mayormente predominan en los granos de kéfir son: *Lactobacillus kefiranofaciens*, *Lacticaseibacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus delbruekii* subsp. *Bulgaricus* todas catalogados como probióticos (Prado et al., 2015: p.1177), lo cual, genera que la bebida elaborada se ubique en esta categoría por la diversidad de bacterias benéficas que en ella se encuentra.

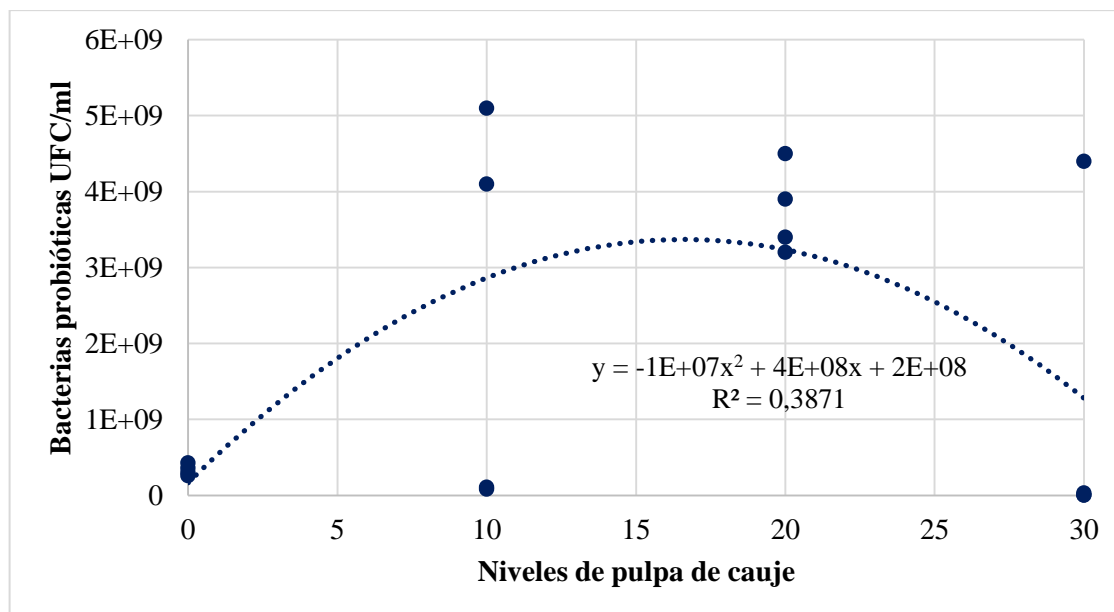


Ilustración 4-4: Bacterias probióticas en la bebida funcional elaborada con diferentes niveles de pulpa de cauje

Realizado por: Moreno, Freddy, 2022

4.3.3 Mohos y Levaduras

4.3.3.1 Mohos

En la fermentación de la bebida funcional elaborada con diferentes niveles de pulpa de cauje, de acuerdo con el análisis microbiológico, no hubo la presencia de mohos en ningún tratamiento, como se aprecia en la tabla 11-4, el producto se elaboró en condiciones higiénicas, debido a que este microorganismo es un indicador de la calidad sanitaria, lo cual, su ausencia brinda seguridad al consumo de este tipo de bebida funcional (García & Hernández, 2015: pp.119-124). Todos los tratamientos se encuentran dentro de lo que permite la norma (NTE INEN 2395, 2011, pp.3-4).

4.3.3.2 Levaduras

Las levaduras no presentan diferencias estadísticas por efecto de los diferentes niveles de pulpa de cauje, registrándose un menor valor numérico al utilizar el 20% de pulpa de cauje con un crecimiento de $1,51 \times 10^8$ UFC/ml, en cambio al emplear el 30% de pulpa de cauje se obtiene el mayor valor numérico con un crecimiento de $1,86 \times 10^9$ UFC/ml como se aprecia en la tabla 11-4. De acuerdo al análisis de la regresión se estableció una tendencia cuadrática, a medida que se incrementa los niveles de pulpa de cauje el contenido de levaduras tiende a reducirse, pero con niveles superiores al 20% se incrementa (ver ilustración 5-4) debido a la cantidad de sustrato

utilizado, las levaduras presentan una mayor tasa de crecimiento, cuando existe una gran concentración de nutrientes en el medio y una señal para corroborar esto es una mayor producción de CO₂ como subproducto (Brase et al., 2017: p.1). Este resultado es superior a lo obtenido por (Alves et al., 2021: p.1057) quien elaboró una bebida base de kéfir 10% (p/v), a una temperatura de 20°C, utilizando como sustrato leche Semidesnatada UHT, reportando un crecimiento de 2x10⁶ UFC/ml, es importante destacar que en la mayoría de las investigaciones el crecimiento de levaduras es de 1x10⁶ a 1x10⁷ (Moretti et al., 2022: p.4). Las diferencias se deben a la temperatura de fermentación y la concentración del inóculo inicial (Dadkhah et al., 2011: pp.293-299). Además, dependiendo el origen de los granos de kéfir, la diversidad microbiana va a cambiar, es así como, Taiwán y Eslovenia presentan el mayor número de levaduras diferentes, seguido por Sudáfrica, Bélgica, Brasil, Italia y Bulgaria (Plessas et al., 2016: pp.2-3). Es importante resaltar que todos los tratamientos superan el rango mínimo aceptable 1x10⁴ UFC/ml para el crecimiento de levaduras de acuerdo con la norma (NTE INEN 2395, 2011, pp.3-4).

Las levaduras y las bacterias lácticas, tienen una estrecha relación simbiótica, las levaduras tienen un efecto estimulador en las LAB y viceversa (Stoyanova et al., 2017: pp.41-61), las levaduras se encargan de asimilar el ácido láctico, la *S. cerevisiae*, utiliza el lactato como fuente de carbono lo que da como resultado un aumento de pH y permite el crecimiento de las BAL a largo plazo (Katakura et al., 2010: pp.319-326), además, las levaduras al producir CO₂, generan un medio con menor concentración de oxígeno lo que favorece el crecimiento de BAL (Karacali et al., 2018: pp.921-933), finalmente las levaduras promueven el crecimiento bacteriano mediante el suministro de vitaminas, factores de crecimiento y aminoácidos esenciales (Pahwa et al., 2010: pp.3972-3976).

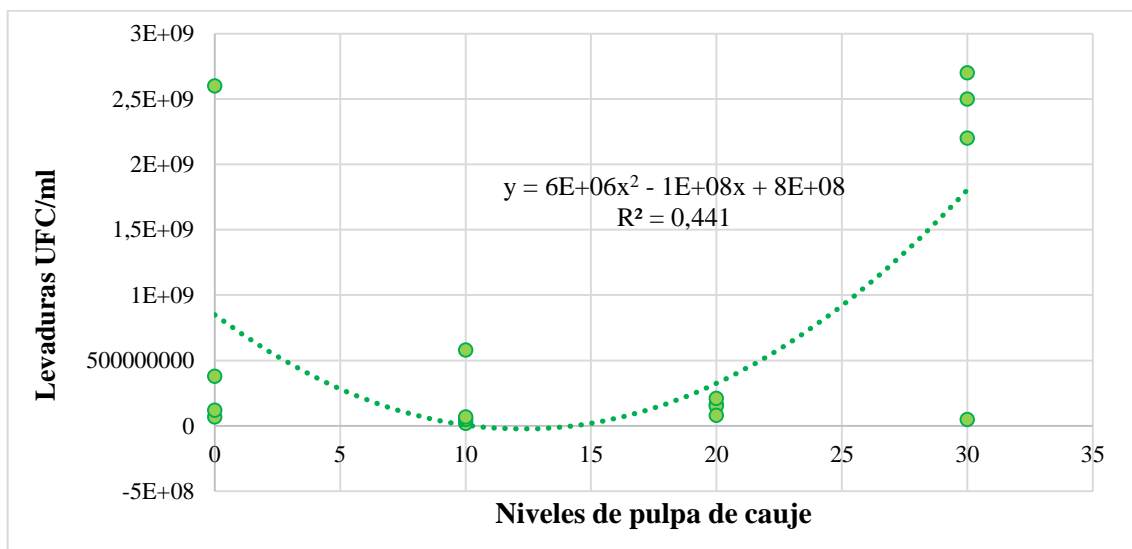


Ilustración 5-4: Levaduras en la bebida funcional elaborada con diferentes niveles de pulpa de cauje

Realizado por: Moreno, Freddy, 2022

4.3.4 Aerobios Mesófilos

El crecimiento de aerobios mesófilos presenta diferencias significativas por efecto de los diferentes niveles de pulpa de cauje, obteniéndose el crecimiento más alto al utilizar el 10, 20 y 30% de pulpa de cauje con $4,6 \times 10^6$, $5,2 \times 10^6$, $6,4 \times 10^6$ UFC/ml respectivamente, a diferencia de usar el tratamiento control quien registró el crecimiento más bajo con $1,7 \times 10^6$ UFC/ml como se observa en la tabla 11-4. De acuerdo con el análisis de la regresión se estableció una tendencia lineal, es decir, mientras se aumenta los niveles de pulpa de cauje incrementa el número de aerobios mesófilos, en otras palabras, por cada unidad adicional de pulpa de cauje los aerobios mesófilos incrementan en 0,52 unidades (ver ilustración 6-4). Esto es por efecto de la concentración de carbohidratos en cada tratamiento, de acuerdo con (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, porque, influye de forma drástica en la población de bacterias, la fruta puede estimular el crecimiento de estas bacterias y aumentar su actividad, mientras mayor cantidad y disponibilidad, mayor crecimiento bacteriano. El resultado obtenido en la investigación se encuentran dentro del rango reportado por (Karabiyikli & Dastan, 2016: p.1) quien determinó los perfiles microbiológicos de 3 kéfir producidos industrialmente y comercializados y 3 producidos de forma tradicional a escala doméstica y 3 producidos a nivel laboratorio, obteniendo una cantidad de bacterias aerobias mesófilas de 5,74 y 8,50 Log UFC/ml, además, se han reportado valores mucho más altos como es (Irkin & Songun, 2022: pp.556-564) quienes utilizaron mezclas de leche de vaca y cabra (1:1 v/v), con adición de inulina 1 y 2% y 2% de gránulos de kéfir, donde el primer día tuvo un valor de 8,94 Log UFC/ml, llegando a aumentar a 10,50 – 10,55 Log UFC/ml de aerobios mesófilos en 40 días a 4°C de almacenamiento. Las diferencias se deben al sustrato, debido a que, la complejidad química del sustrato afecta de forma directa la interacción de las bacterias, es así, como un sustrato complejo promueve interacciones positivas y un crecimiento sinérgico (Deng & Wang, 2016: pp.23-30). Hay que mencionar que en la norma (NTE INEN 2395, 2011, pp.3-4) no establece el crecimiento de aerobios mesófilos, pero se vio en la necesidad de medir su influencia en la bebida, corroborando que su crecimiento elevado no define una baja calidad microbiológica, sino lo contrario, por su diversidad microbiana que forma parte de los gránulos de kéfir.

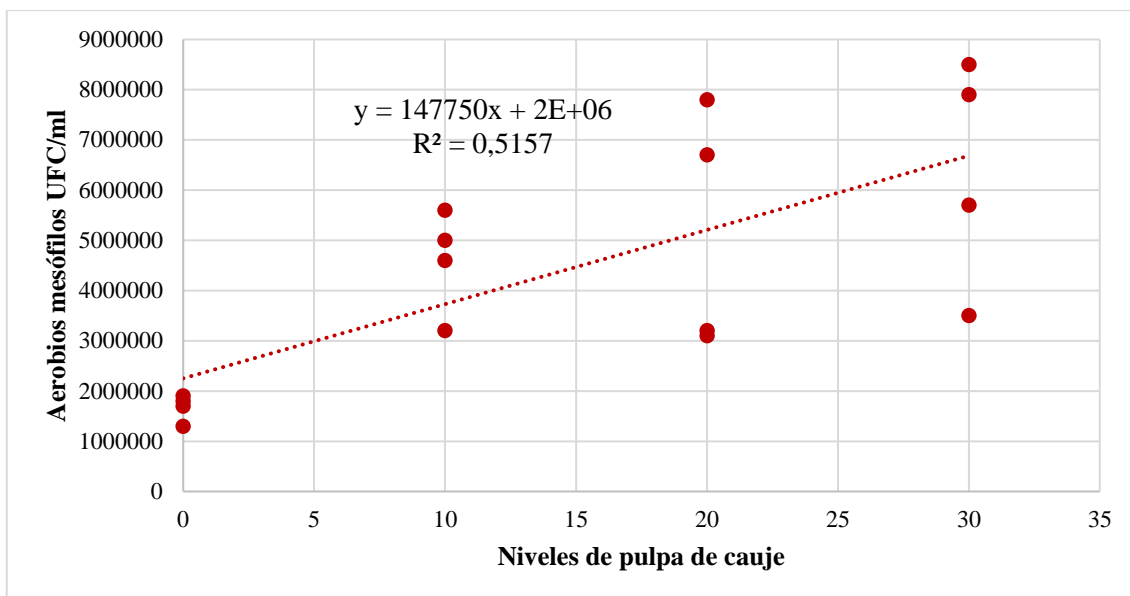


Ilustración 6-4: Aerobios mesófilos en la bebida funcional elaborado con diferentes niveles de pulpa de cauje

Realizado por: Moreno, Freddy, 2022

4.4 Análisis Organoléptico de la bebida funcional

Se analizó las propiedades organolépticas de la bebida funcional elaborado con diferentes niveles de pulpa de cauje (*Pouteria caimito*), para ello, se utilizaron 30 panelistas no entrenados, utilizando una prueba escalar hedónica de 5 puntos, siendo 1 el valor más bajo en la calificación y 5 el más alto, para la valoración de los datos obtenidos, se utilizó una prueba no paramétrica (Friedman) con un p-valor $\leq 0,05$, para determinar si existe o no diferencias significativas en los parámetros organolépticos, por efecto de la pulpa de la fruta. En la tabla 12-4, se aprecia las medias de cada tratamiento con su significancia.

Tabla 12-4: Valoración organoléptico de la bebida funcional elaborado con diferentes niveles de pulpa de cauje

NIVELES DE PULPA DE				
	CAUJE (%)	COLOR (\bar{x})	OLOR (\bar{x})	SABOR (\bar{x})
		3,83 a	3,33 a	3,87 a
	0	Muy bueno	Bueno	Muy bueno
		3,23 ab	3,03 a	1,37 d
	10	Bueno	Bueno	Malo
		3,17 abc	3 a	2 b
	20	Bueno	Bueno	Regular
		3,03 d	3,3 a	2,03 bc
	30	Bueno	Bueno	Regular
	P	0,0098	0,6438	<0,0001

\bar{x} : Media

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 Friedman ($p > 0,05$)

Realizado por: Moreno, Freddy, 2022

4.4.1 Color

El color de la bebida funcional, presentan diferencias altamente significativas por efecto de los diferentes niveles de pulpa de cauje, encontrándose que, al emplear el tratamiento control, se obtiene la valoración más alta con 3,83 correspondiendo a “muy bueno”, en cambio, al utilizar 30% de pulpa de cauje, se registra una disminución en la valoración con 3,03 correspondiendo a “bueno” (ver tabla 12-4). De acuerdo con el análisis de la regresión, se estableció una tendencia cúbica, mientras se aumenta los niveles de pulpa de cauje se genera una disminución en la aceptación del color, pero a partir del 20% se produce un aumento y niveles superiores nuevamente disminuye la aceptación, como se observa en la ilustración 7-4. Las personas prefieren las bebidas con colores oscuros a los claros (Restrepo, 2022, p.12), es así que, mientras mayores niveles de pulpa de cauje la bebida se torna más clara, esto se corrobora con lo reportado por (Caiza, 2019, pp.108-109) quien en su mejor tratamiento al utilizar 50% de lactosuero y 50% de leche de chocho con panela, fermentando con kéfir de agua, tuvieron una valoración de 4, donde las personas prefirieron las bebidas de colores oscuros a los colores claros, debido a la predominancia del color de la panela, lo mismo que nuestro estudio.

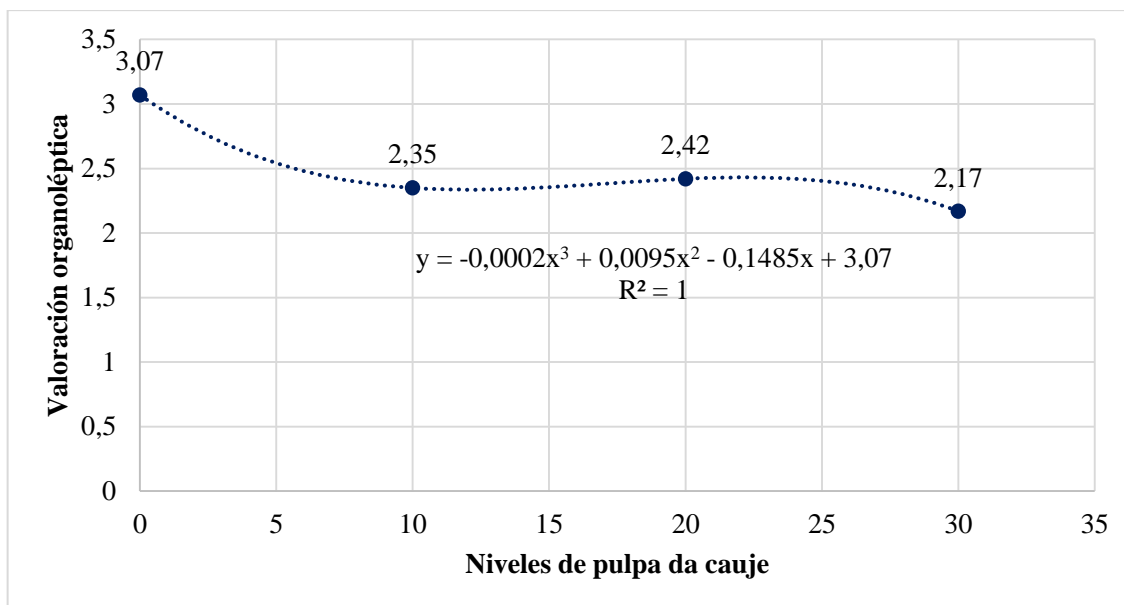


Ilustración 7-4: Comportamiento del color de la bebida funcional por efecto del empleo de diferentes niveles de pulpa de cauje

Realizado por: Moreno, Freddy, 2022

4.4.2 Olor

El olor de la bebida funcional no presenta diferencias estadísticas, por efecto de los diferentes niveles de pulpa de cauje, ubicándose en la categoría de “bueno” con un rango de 3 a 3,33 como se observa en la tabla 12-4. Las levaduras del género *Saccharomyces* sp., *Kluyveromyces* sp., *Pichia* sp. Y *Candida* sp., son responsables de la formación de precursores del aroma de la bebida durante el proceso de fermentación y maduración (Lu et al., 2014: pp. 1-9), los compuestos aromáticos que más predominan en la bebida se han encontrado acetato de etilo, acetato de isoamillo, hexanoato de etilo, octanoato de etilo y decanoato de etilo, estos 2 últimos son ésteres de fruta y tienen un gran impacto en la parte organoléptica de la bebida (Laureys & De Vuyst, 2014: pp.2564-2572).

4.4.3 Sabor

El sabor de la bebida funcional presentó diferencias altamente significativas, por efecto de los diferentes niveles de pulpa de cauje, encontrándose que, al utilizar el tratamiento control se obtiene la mayor valoración con 3,87 ubicándose en el rango de “muy bueno”, sin embargo, cuando se utiliza el 10% de pulpa de cauje la aceptación disminuye en 1,37 categorizándose como “malo” como se observa en la tabla 12-4. Al aplicar el análisis de la regresión se estableció una tendencia cúbica, mientras se aumenta los niveles de pulpa de cauje la aceptación disminuye, hasta el empleo del 20% donde se incrementa y a partir de niveles superiores de pulpa de cauje disminuye (ver ilustración 8-4). Esto por efecto del mismo sabor del cauje y de la apreciación de

las personas, de acuerdo a (Robles, 2020, p.52) en una evaluación del sabor del cauje a 96 niños, el 33% percibió un sabor dulce, un 25% un sabor insípido, un 21% ácido, un 15% amargo y un 6% salado, puede ser que, con el 20% de pulpa de cauje se equilibre la sensación en boca y no sea ni muy ácido, insípido, amargo etc., en cambio, sí aumentamos los niveles de pulpa, se puede generar una predominancia de un sabor en la bebida que no es agradable al consumidor. Estos valores son menores a los reportado por (Caiza, 2019, p.112) quien obtuvo un valor de 5 al elaborar una bebida fermentada a base de suero de leche, panela y kéfir, entrando en la categoría de agradable. El kéfir de agua se asocia con un sabor ácido, ligeramente dulce, gaseoso y ligeramente fermentado (Gamba et al, 2019: pp.303-312), en el proceso fermentativo el sabor, se debe a 14 compuestos volátiles (4 aldehídos, 4 alcoholes y 6 ésteres), 8 ácidos orgánicos y 3 azúcares, la sacarosa tiende a disminuir y la fructosa aumentar, produciendo metabolitos clave como son el ácido acético, ácido láctico, ácido succínico, ácido glucónico, lo que le da un sabor ligero a extremadamente ácido, de acuerdo al sustrato que se utilice para la fermentación (Patel et al., 2022: pp.1-10).

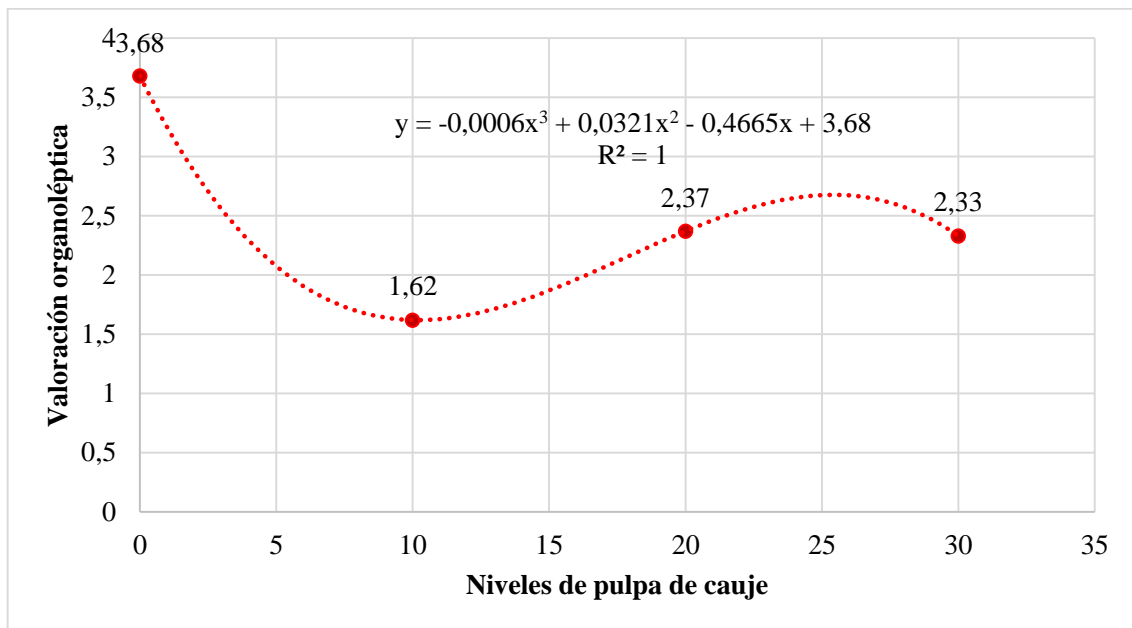


Ilustración 8-4: Comportamiento del sabor de la bebida funcional elaborada con diferentes niveles de pulpa de cauje

Realizado por: Moreno, Freddy, 2022

4.5 Costos de Producción

4.5.1 Costos de producción

El costo de producción se calculó por cada litro de bebida funcional elaborada, obteniendo el costo más alto al utilizar el 30% de pulpa de cauje con \$ 1,68, en cambio, al utilizar el 10% de pulpa de cauje se obtiene el costo de producción más bajo con \$ 1,39, como se observa en la tabla 13-4.

4.5.2 Beneficio/Costo

Mediante el indicador beneficio/costo se determinó que, mientras se aumentan los niveles de pulpa de cauje, se incrementan los costos y disminuye el beneficio, es así que al utilizar el 30% de pulpa de cauje se obtiene el B/C de \$ 1,19, en cambio, al usar el 10% de pulpa de cauje disminuyen los costos y aumenta el beneficio en \$ 1,44, siendo el tratamiento más rentable como se observa en la tabla 13-4.

Tabla 13-4: Análisis económico de la elaboración de la bebida funcional elaborada con diferentes niveles de pulpa de cauje

DESCRIPCIÓN	Cantidad	Horas	Unidad	Precio unitario	Precio Total	Niveles de pulpa de cauje			
						0%	10%	20%	30%
Cauje	2,4		Kg	1,67	4,00	0,00	0,67	1,33	2,00
Panela	400		g	0,00	1,00	1,00	0,00	0,00	0,00
Nódulos de Kéfir	2,64		Kg	1,89	5	1,25	1,25	1,25	1,25
Agua	10,56		L	0,24	2,48	0,69	0,69	0,60	0,50
Envase de plástico	16				3,52	0,88	0,88	0,88	0,88
Mano de obra	1	4			7,50	1,9	1,9	1,9	1,9
Gas y Energía eléctrica					0,2	0,05	0,05	0,05	0,05
TOTAL, EGRESOS					23,70	5,75	5,41	5,99	6,56
Cantidad de Producto (Litros)						3,9	3,9	3,9	3,9
Costo de Producción dólares/litro						1,47	1,39	1,53	1,68
Precio de bebida funcional/Litro						2,00	2,00	2,00	2,00
TOTAL, INGRESOS						7,80	7,80	7,80	7,80
BENEFICIO/COSTO						1,36	1,44	1,30	1,19

Realizado por: Moreno, Freddy, 2022

CONCLUSIONES

- La pulpa de cauje (*Pouteria caimito*) presenta una humedad de $81,1 \pm 0,42\%$, azúcares totales de $10,58 \pm 0,30\%$, proteína $1,03 \pm 0,13\%$ y fibra $1,13 \pm 0,14\%$.
- El mejor nivel de pulpa de cauje (*Pouteria caimito*) para elaborar la bebida funcional, es el 10%, por ser el tratamiento más rentable y por cumplir con los requerimientos fisicoquímicos y microbiológicos de acuerdo con las normas (NTE INEN 1101, 2017; NTE INEN 2395, 2011).
- En el proceso de fermentación, el empleo del tratamiento control provoca el aumento de la acidez $0,97 - 3,60$ g/L ácido láctico, una disminución en sólidos solubles $10,38$ a $7,25$ °Brix y pH $5,50$ a $3,28$. En los análisis microbiológicos, hubo ausencia de coliformes totales, los diferentes niveles de pulpa de cauje no influyeron en el crecimiento de bacterias ácido-lácticas y levaduras, ubicándose en la categoría de alimentos probióticos, el empleo del 30% de pulpa de cauje presentó el mayor crecimiento en aerobios mesófilos con $6,4 \times 10^6$ UFC/ml. En el análisis organoléptico el tratamiento control presentó la mayor aceptación en color y sabor con una puntuación de muy bueno.
- Al utilizar el 10% de pulpa de cauje para elaborar una bebida funcional, se obtiene el menor costo de producción por litro con \$ 1,39, con un beneficio/costo de \$ 1,44, siendo el tratamiento económicamente más rentable.

RECOMENDACIONES

- Elaborar una bebida con el 10% de pulpa de cauje, debido a que, económicamente es rentable y presenta la cantidad de microorganismos viables para considerarse un alimento funcional.
- Investigar el efecto del té negro, rojo y azul, como potenciadores de las características organolépticas de la bebida funcional elaborada con el 10% de pulpa de cauje.
- Difundir el consumo de la bebida funcional elaborada con el 10% de pulpa de cauje, porque, permite aumentar la diversidad de la flora bacteriana.

BIBLIOGRAFIA

ALVES, Emília; et al. “Characterization of Kefir Produced in Household conditions: Physicochemical and Nutritional Profile, and Storage Stability”. *Foods* [en línea], 2021, (Portugal) 10, p. 1057. [Consulta: 18 octubre del 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/foods10051057>

BAZÁN TANTALEÁN, Delicia Liliana. Producción y caracterización de bebidas funcionales obtenidas por fermentación de zumos de frutas con gránulos de kéfir [En línea] (Trabajo de titulación). (Doctoral) Universidad de Vigo, Ourense, España. 2020. p. 43. [Consulta: 2022/03/19]. Disponible en: <http://www.investigacion.biblioteca.uvigo.es/xmlui/handle/11093/1643>

BOLAÑOS PRTEGA, Verónica Valeria. Elaboración de dos bebidas, Fermentadas con Gránulos de Kéfir en Agua y Leche, para corroborar si son bebidas Probióticas según la Norma INEN 2395-2011 [en línea] (Trabajo de titulación). (Pregrado) Universidad De Guayaquil, Guayaquil, Ecuador. 2014. p. 29. [Consulta: 21 junio 2022]. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/7976/1/BCIEQ-%20T-%200006%20Bola%20Veronica%20Ortega%20Veronica%20Valeria.pdf>

BONILLA NEPOMUCENO, Galileo. Implementación de análisis bromatológico (grasas totales, cenizas, humedad y fibra cruda) en la empresa Alimentos Tenerife [en línea] (Trabajo de titulación). (Pregrado) Universidad Tecnológica del Centro de Veracruz, Veracruz, México. 2016. p. 11. [Consulta: 21 junio 2022]. Disponible en: <http://reini.utcv.edu.mx/bitstream/123456789/343/1/007166-Implementaci%C3%B3n%20de%20an%C3%A1lisis%20bromatol%C3%B3gicos%20%28grasas%20totales%20cenizas%20humedad%20y%20fibra%20cruda%29%20en%20la%20empresa%20Alimentos%20Tenerife.pdf>

BRASE, Sarah; et al. “Yeast is a Beast at Producing CO₂”. *Journal of Introductory Biology Investigations* [en línea], 2017, 7(3), p. 1. [Consulta: 19 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.>

BURANELO EGEEA, Mariana; et al. “Physicochemical Characteristics and Rheological Properties Of Soymilk Fermented with Kefir”. *Biointerface Research in Applied Chemistry* [en

línea], 2021, (Brazil) 13(2), p. 4. [Consulta: 20 octubre del 2022]. Disponible en: <https://biointerfaceresearch.com/wp-content/uploads/2022/03/BRIAC132.127.pdf>

CAIZA SACA, Liliana Esperanza. Elaboración de una bebida fermentada a partir de Lactosuero y leche de Chocho (*Lupinus mutabilis sweet*) utilizando al Kéfir de Agua como Fermento [en línea] (Trabajo de titulación). (Pregrado) Universidad Técnica de Cotopaxi, Cotopaxi, Ecuador. 2019. pp. 303-312. [Consulta: 24 octubre 2022]. Disponible en: <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/6152/6/PC-000665.pdf>

CARLOSAMA CHAMORRO, Paola Fernanda. Diseño del plan y documentación para la implementación de buenas prácticas de manufactura para la elaboración de panela granulada para las unidades productivas paneleras de la COPROPAP de Pacto [en línea] (Trabajo de titulación). (Tesis de pregrado) Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador. 2009. p.1. [Consulta: 9 mayo 2022]. Disponible en: <http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/1663/1/CD-2015.pdf>

CARO VÉLEZ, Carlos Andrés; & LEÓN PELÁEZ, Angela. “Inhibición del crecimiento de *Aspergillus ochraceus* mediante “Panela” fermentada con gránulos de Kéfir de Agua”. *VITAE, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica* [en línea], 2014, (Colombia) 21(3), pp. 191-200. [Consulta: 22 octubre del 2022]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v21n3/v21n3a04.pdf>

CORBO, María Rosaria; et al. “Bebidas funcionales: el lado emergente de los alimentos funcionales”. *Comprehensive reviews in Food Science in Food Safety* [en línea], 2014, (Estados Unidos) 13(6), p. 7. [Consulta: 19 marzo del 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12109>

DADKHAH, Shiva; et al. “Kefir production from soymilk”. *Annals of Biological Research* [en línea], 2011, (Iran) 2(6), pp. 293-299. [Consulta: 18 octubre del 2022]. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/R-Pourahmad/publication/291034511_Kefir_production_from_soy milk/links/59e4cdbf0f7e9b97bf0936f/Kefir-production-from-soymilk.pdf

DAVIDOVIĆ, Sladana; et al. “Water Kefir Grain as a Source of Potent Dextran Producing Lactic Acid Bacteria”. *Hemijaska industrija* [en línea], 2014, (Serbia) 69(6), pp. 595–604. [Consulta: 20 marzo del 2022]. Disponible en: <http://www.doiserbia.nb.rs/img/doi/0367-598X/2015/0367-598X1400083D.pdf>

DE LOS REYES RIVADENEIRA, José Alejandro. Plan de implementación y desarrollo de buenas prácticas de manufactura en la elaboración de panela granulada y en bloque en la planta panelera Gardenia [en línea] (Trabajo de titulación). (Pregrado) Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador. 2011. p. 1. [Consulta: 20 de marzo del 2022]. Disponible en: <http://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/2738>

DENG, Yi-Jie; & WANG, Shiao. “Synergistic growth in bacteria depends on substrate complexity”. *J Microbiol* [en línea], 2016, (USA) 54(1), pp. 23-30. [Consulta: 19 noviembre 2022]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4822414/>

DÍAZ GARCÉS, Joaquin; et al. “Determinación de algunos parámetros para la producción doméstica de tibicos”. *Revista latinoamericana de microbiología* [en línea], 2015, (Saúde) 30(2), pp.143-146. [Consulta: 9 mayo del 2022]. Disponible en: <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=94120&indexSearch=ID>

DISEGNI, Carolina. *Sor Teresa de Calcuta: Su insólita historia con hongos tibetanos* [en línea]. (Cultura India), de Guioteca: DF, México, (2012). [Consulta: 19 marzo 2022]. Disponible en: <http://www.guioteca.com/cultura-india/madre-teresa-de-calcuta-su-insolita-historia-con-loshongos-tibetanos/>

DWILOKA, Bambang; et al. “Physicochemical and Sebsory Characteristics of Green Coconut (*Cocos nucifera* L.)”. *International Journal of Food Studies* [en línea], 2020, (Indonesia) 9, pp. 346-359. [Consulta: 18 octubre del 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.7455/ijfs/9.2.2020.a7>

FALCAO, Martha; & CLEMENT, Charles Roland. “Fenología y productividad del abiu (*Pouteria caimito*) en la Amazonía Central”. *Scielo* [en línea], 1999, (Brasil) 29(1), pp. 3-11. [Consulta: 19 marzo 2022]. Disponible en: <https://www.scielo.br/j/aa/a/MZMtXFK6ffqrDX7khLrgqcw/abstract/?lang=pt>

FAO; & OMS. *Probióticos en los alimentos - Propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación*. [en línea]. Alimentación y Nutrición. (2006). [Consulta: 10 mayo 2022]. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/009/a0512s/a0512s00.pdf>
FORTUNATO

FERNANDEZ ARAÚJO, Margarete; et al. “Kefir de Água e Leite: Composicao Físico-Química Em Diferentes Substratos”. *Revista Brasileira de Obesidade, Nutricao e Emagrecimiento* [en línea], 2019, (Brasil) 13(80), p. 645-651. [Consulta: 17 octubre 2022]. ISSN 1981-9919. Disponible en: <http://www.rbone.com.br/index.php/rbone/article/view/1036/861>

FIORDA, Fernanda; et al. “Microbiological, biochemical, and functional aspects of sugary Kefir fermentation – A Review”. *Food Microbiology* [en línea], 2017, (Brazil) 66, pp. 86-95. [Consulta: 20 octubre 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.04.004>

FORTUNATO SEIXAS, Fernanda Rosas; et al. “Physicochemical Properties and Effects of Fruit Pulp from the Amazon Biome on Physiological Parameters in Rats”. *Nutrients* [en línea], 2021, (Brasil) 13(5), p. 1484. [Consulta: 12 octubre 2022]. Disponible en: [10.3390/nu13051484](https://doi.org/10.3390/nu13051484)

GAMBA, R.; et al. “Microbiological and functional characterization of kéfir grow in different sugar solution”. *Food Science and Technology Research* [en línea], 2019, (Egypt) 25(2), pp. 303-312. [Consulta: 24 octubre 2022]. Disponible en: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85065542852&origin=inward&txGid=e0d6d5560c1d1e5e0e32099ccb94d812>

GARCÍA TORRES, Jessica Graciela; & HERNÁNDEZ DE BERMUDEZ, Rosa Carolina. Fermentación de Leche Descremada UHT a Partir de Gránulos de Kéfir [en línea] (Trabajo de titulación). (Pregrado) Universidad De El Salvador, San Salvador, El Salvador. 2015. pp. 119-124. [Consulta: 22 octubre 2022]. Disponible en: <https://ri.ues.edu.sv/id/eprint/7662/1/16103581.pdf>

GAROFALO, Cristiana; et al. “Study of Kefir drinks produced by backslopping method using Kefir grains from Bosnia and Herzegovina: Microbial dynamics and volatilome profile”. *Food Research International* [en línea], 2020, 137, pp.86-95. [Consulta: 20 octubre 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109369>

GÓMEZ MARQUEZ, Isabel Cristina. Determinación de las propiedades Bromatológicas, Fisicoquímicas, Termofísicas y Mecánicas del caimito (*Crysophyllum cainito* L) variedad morado cultivado en el departamento de Córdoba y Antioquía [en línea] (Trabajo de titulación). (Pregrado) Universidad de Córdoba, Córdoba, Colombia. 2016. p. 35. [Consulta: 19 octubre 2022]. Disponible en: <https://repositorio.unicordoba.edu.co/bitstream/handle/ucordoba/1037/TRABAJO%20DE%20GRADO%20ISABEL%20CRISTINA%20G%20C%20M%20Y%20O%20R%20F%20A%20N%20E%20L%20L%20Y%20U%20R%20E%20A.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

GOTTAU, Gabriela. *Conoce lo que sa en una fruta cuando madura* [en línea]. 2017. [Consulta: 19 noviembre 2022]. Disponible en: <https://www.vitonica.com/alimentos/conoce-lo-que-pasa-en-una-fruta-cuando-madura>

GULITZ, A.; et al. “Comparative phylobiomic analysis of the bacterial community of water kefir by 16S rRNA gene amplicon sequencing and ARDRA analysis”. *The Society for Applied Microbiology* [en línea], 2013, 114(4), pp. 1082-1091. [Consulta: 9 mayo 2022]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23289707>

HERNÁNDEZ SÁNCHEZ, María de la luz; et al. “Caracterización de frutos de caimito (*Chrysophyllum cainito* L.) en el estado de Veracruz, México”. *UDO Agrícola* [en línea], 2009, (México) 9(1), pp. 70-73. [Consulta: 10 mayo 2022]. Disponible en: <http://www.bioline.org.br/pdf?cg09010>

HERNÁNDEZ, Silvia. *Evaluación sensorial*. [en línea]. Bogotá-Colombia, 2005. [Consultado: 6 de junio 2022]. Disponible en: https://www.academia.edu/22625186/EVALUACION_SENSORIAL

HYUN PARK, Doo. “Effects of carbón dioxide on metabolite production and bacterial communities during kimchi Fermentation”. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* [en línea], 2018, (Japan) 82(7), pp. 1234-1242. [Consulta: 19 noviembre 2022]. Disponible de: <https://doi.org/10.1080/09168451.2018.1459462>

INGA, Gámez. *Fruta exótica de la selva*. [blog]. (Consulta: 19 de marzo de 2022). Disponible en: frutasexoticasselva.blogspot.com

IRKIN, Reyhan; & SONGUN, Emmun. “Improving Functional Properties of Kefir Produced with Cow and Goat Milk”. *KSU Journal Agric Nat* [en línea], 2022, 25(3), pp. 556-564. [Consulta: 22 octubre 2022]. Disponible en: <http://dogadergi.ksu.edu.tr/en/download/article-file/1633550>

IRAPORDA, Carolina; et al. “Biological activity of the non-microbial fraction of kéfir: antagonism against intestinal pathogens”. *Journal of dairy Research* [en línea], 2017, 84(3), pp. 339–345. [Consulta: 21 octubre 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1017/S0022029917000358>

JAYABALAN 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. 392–398. [Consulta: 9 mayo 2022]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814606004250>

KANIA SUBARDAJO, Maria Vina. Black Tea Water Kefir Beverage [en línea] (Trabajo de titulación). (Maestría) Massey University, Albany, New Zealand. 2017. pp. 65-66. [Consulta: 20 octubre 2022]. Disponible en: https://mro.massey.ac.nz/bitstream/handle/10179/12219/02_whole.pdf?sequence=3&isAllowed=y

KARACALI, Ragibe; et al. “Aromatic and functional aspects of kéfir produced using soya mil and *Bifidobacterium* species”. *International Journal of Dairy Technology* [en línea], 2018, 71(4), pp. 921-933. [Consulta: 22 octubre 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12537>

KARABIYIKLI, S.; & DASTAN, S. Microbiologic profile of Kefir which is a traditional and fuctional food”. *Biology* [en línea], 2016, p. 1. [Consulta: 22 de octubre del 2022]. Disponible en: <https://www.semanticscholar.org/paper/Microbiologic-profile-of-kefir-which-is-a-and-food.-Karab%C4%B1y%C4%B1k%C4%B1-Dastan/7c6d959c887a87f8de1072bf6b4d1f20706b6705#citing-papers>

KATAKURA, Yoshio; et al. “Lactic acid bacteria display on the cell Surface cytosolic proteins that recognize yeast mannan”. *Appl Micrbiol Biotechnol* [en línea], 2010, 86(1), pp. 319-326. [Consulta: 22 de octubre del 2022]. Disponible en: [10.1007/s00253-009-2295-y](https://doi.org/10.1007/s00253-009-2295-y)

KIM, Y.; & LIU, R. “Increase of conjugated Linoleic Acid Content in Milk by Fermentation with Lactic Acid Bacteria”. *Journal of Food Science* [en línea], 2006, 67(5), pp. 1731-1737. [Consulta: 18 de octubre del 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb08714.x>

LAUREYS, David; & DE VUYST, Luc. “Microbial Species Diversity, Community Dynamics, and Metabolite Kinetics of Water Kefir Fermentation”. *American Society For Microbiology* [en línea], 2015, (Belgium) 80(8), pp. 2564-2572. [Consulta: 24 octubre 2022]. Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/epub/10.1128/AEM.03978-13>

LEITE, A.; et al. “Probiotic potential of selected lactic acid bacteria strains isolated from Brazilian Kefir grains”. *Journal of Dairy Science* [en línea], 2014, (Brazil) 98(6), pp. 3622-3632. [Consulta: 21 octubre 2022]. Disponible en: <https://www.journalofdairyscience.org/action/showPdf?pii=S0022-0302%2815%2900229-5>

LIM, T. K. “*Pouteria Caimito*”. *Edible Medicinal And Non – Medicinal Plants* [en línea], 2013, (Brasil), pp. 129-132. [Consulta: 19 de marzo del 2022]. Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-94-007-5628-1_22

LÓPEZ AGUIAR, Jaime Paiva; & AMARAL SOUSA, Francisca das Chagas. “Soluble and Insoluble Fiber in Some Amazonian Fruits with Low Energy Density”. *Food and Nutrition Sciences* [En línea], 2014, (Brazil), pp. 1415-1419. [Consulta: 13 octubre 2022]. Disponible en: https://www.scirp.org/html/14-2701238_49038.htm#T1

LOPEZ ROJO, J. P.; et al. “Estudio de la fermentación de Kéfir de Agua de Piña con Tibicos”. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* [en línea], 2017, (México) 16(2), pp. 405-414. [Consulta: 17 octubre 2022]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/620/62052087007.pdf>

LORENZI, H. *Arboles brasileños: manual de identificación de cultivo de plantas arbolarias nativas de Brasil*. Sao Paulo- Brasil: Editor Plantarum. 1998. p 70.

LOVE, K.; & PAULL, R. E. “Abiu”. *Universidad de Hawái* [En línea], 2011, (Estados Unidos), pp. 1-6. [Consulta: 19 de marzo del 2022] Disponible en: <http://hdl.handle.net/10125/33295>

LU, Man; et al. “Fine Structure of Tibetan Kefir Grains and Their Yeast Distribution, Diversity, and Shift”. *Plos One* [en línea], 2014, (China) 9(5), pp. 1-9. [Consulta: 24 octubre 2022].

Disponible en:
<https://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.0101387&type=printable>

MALMA RUIZ, Liliana Mercedes. Proceso Homofermentativo de Kéfir con Bacterias Probióticas Típicas para prolongar su tiempo de vida útil [en línea] (Trabajo de titulación). (Pregrado) Universidad Nacional del Callao, Callao, Perú. 2020. p. 75. [Consulta: 21 octubre de 2022]. Disponible en:

http://repositorio.unac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12952/6341/TESIS_PREGRADO_MALMA_FIQ_2020.pdf?sequence=1&isAllowed=y

MARTÍNEZ MORALES, Arturo; et al. “Comportamiento de frutos de zapote mamey (*Pouteria sapota*) en atmósferas con bajo CO₂ y moderado CO₂”. *Revista Fiotecnia Mexicana* [en línea], 2007, (México) 31(3), pp. 286-297. [Consultado el 10 de mayo del 2022]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/610/61009711.pdf>

MIAO, Jianyin; et al. “Inhibitory effects of a novel antimicrobial peptide from kéfir against *Escherichia coli*”. *Food Control* [en línea], 2016, (China) 65, pp. 63-72. [Consultado: 21 octubre 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.01.023>

MONAR, Miguel; et al. “Caracterización químicas y microbiológica del kefir de agua artesanal de origen ecuatoriano”. *ACI Avances en ciencias e ingenierías* [en línea], 2014, (Ecuador) 6(1), pp.60-66 [Consulta: 9 mayo 2022]. Disponible en: <https://revistas.usfq.edu.ec/index.php/avances/article/view/160>

MONROY ARAGÓN, Ana Rosa Alexandra; et al. *Evaluación del Kéfir de agua (tibicos) en sustratos de melaza y panela para la producción de etanol* [en línea]. 1ª edición. Mérida-Venezuela: Universidad de los Andes, 2017. [Consulta: 20 octubre 2022]. Disponible en: <http://www.saber.ula.ve/handle/123456789/44828>

MORAES, Adrielly Cristina; et al. “Biometria de frutos e sementes de abiu e influencia do sombreamento na emergencia das plântulas”. *Embrapa Amazônia Oriental* [en línea], 2016, (Brasil), pp. 72-75. [Consulta: 10 mayo 2022]. Disponible en: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1053779/1/Pibic2016p71.pdf>

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. p. 43. [Consulta: 19 marzo 2022]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/3918/1/56T00513%20UDCTFC.pdf>

MORENO TERRAZAS CASILDO, Rubén Darío. Determinación de las características microbiológicas, bioquímicas, fisicoquímicas y sensoriales para la estandarización del proceso de elaboración de tepache [en línea] (Trabajo de titulación). (Tesis Doctoral) Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa, México. 2005. pp.30-37. [Consulta: 09 mayo 2022]. Disponible en: <http://148.206.53.84/tesiuami/UAMI11992.pdf>

MORETTI, Ana Florencia; et al. “Water Kefir, a fermented beverage containing probiotic microorganisms: From ancient and artisanal manufacture to industrialized and regulated commercialization”. *Future Foods* [en línea], 2022, (Argentina), p. 4. [Consulta: 22 octubre 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2022.100123>

MOSQUERA, Silvio Andrés; et al. “Variables que afectan la calidad de la panela procesada en el departamento del cauca”. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* [en línea], 2007, (Colombia), p. 23. [Consulta: 19 octubre 2022]. Disponible en: <https://revistas.unicauca.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/645/276>

NIELSEN, S. *ANALISIS DE LOS ALIMENTOS*. Acribia S.A. (2009).

NTE INEN 16, 2015. *Leche y productos lácteos. Determinación de contenido de nitrógeno. Método kjeldahl.*

NTE INEN 380, 1985. *Conservas vegetales. Determinación de sólidos totales. Método refractométrico.*

NTE INEN 381, 1985. *Conservas vegetales. Determinación de acidez titulable. Método potenciométrico referencial.*

NTE INEN 750, 2013. *Productos vegetales y de frutas – determinación de la acidez titulable (IDT).*

NTE INEN 1101, 2017. *Bebidas gaseosas o carbonatadas. Requisitos.*

NTE INEN 1529-2, 2013. *Control microbiológico de los alimentos, toma, envío y preparación de muestras para el análisis microbiológico.*

NTE INEN 1529-5, 2006. *Control microbiológico de los alimentos. Determinación de la cantidad de microorganismos aerobios mesófilos REP.*

NTE INEN 1529-6, 1990. *Control microbiológico de los alimentos. Determinación de microorganismos coliformes por la técnica del número más probable.*

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

NTE INEN-ISO 1842, 2013. *PRODUCTOS VEGETALES Y DE FRUTAS – DETERMINACIÓN DE ph (IDT).*

NTE INEN 2337, 2008. *Jugos, pulpas, concentrados, néctares, bebidas de frutas y vegetales. Requisitos.*

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

NTE INEN 2587, 2011. *Alimentos funcionales requisitos.*

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS). *E. coli* [en línea]. 2018. [Consulta: 21 octubre 2022]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>

ORTEGA CORTEZ, Andy Ariel. Evaluación de parámetros bromatológicos y compuestos funcionales con actividad antioxidante del fruto de *Pouteria caimito* (Ruiz & Pav.) Radlk. Proveniente de la región amazónica del Ecuador [En línea] (Trabajo de titulación). (Pregrado), Universidad Central Del Ecuador, Quito, Ecuador. 2020. p. 7-67. [Consulta: 2022/03/19]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/22570/1/T-UCE-0008-CQU-294.pdf>

PALMETTI, Nestor. *Nutrición Depurativa* [en línea]. 4ta edición. Córdoba-Argentina: Kier, 2010. [Consulta: 20 de marzo 2022]. Disponible en: <https://naturoven.files.wordpress.com/2017/07/palmetti-nestor-nutricion-depurativa.pdf>

PAHWA, Sonia; et al. “Structure based design of novel inhibitors for histidinol dehydrogenase from *Geotrichum candidum*”. *Biorg Med Chem Lett* [en línea], 2010, 20(13), pp. 3973-376. [Consulta: 22 octubre 2022]. Disponible en: 10.1016/j.bmcl.2010.04.116

PATEL, S.; et al. “A temporal view of the wáter microbiota and flavour attributes”. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* [en línea], 2022, (Ireland) 80, pp. 1-10. [Consulta: 24 octubre 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2022.103084>

PENINNTON, Jean. “Food Composition Databases for Bioactive Food Components”. *Journal of Food Composition and Analysis* [en línea], 2002, (Ámsterdam, Países Bajos) 15(4), pp. 419-434. [Consulta: 6 junio 2022]. ISSN 0889-1575. Disponible en: <https://doi.org/10.1006/jfca.2002.1073>

PLESSAS, Stavros; et al. “Microbiological Exploration of Different Types of Kefir Grains”. *Fermentation* [en línea], 2017, (Argentina) 3(1), pp. 2-3. [Consulta: 22 octubre 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/fermentation3010001>

PRADO, Maria; et al. “Milk Kefir: composition, microbial, cultures, biological activities, and related products”. *Frontiers in Microbioogy* [en línea], 2015, (Greece) 6, p.1177. [Consulta: 21 octubre 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01177>

PUERTA QUINTERO, Gloria Inés. “Cinética Química De La Fermentación Del Mucílago De Café A Temperatura Ambiente”. *Revista Cenicafé* [en línea], 2013, (Colombia) 64(1), pp. 42-59. [Consulta: 8 mayo 2022]. Disponible en: <https://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/525/1/arc064%2801%2942-59.pdf>

RED NACIONAL DE LABORATORIOS OFICIALES DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS (RENALOA). *Microorganismos indicadores* [en línea]. Argentina: INAL, 2014. [Consulta: 22 de marzo 2022]. Disponible en: http://www.anmat.gov.ar/renaloa/docs/analisis_microbiologico_de_los_alimentos_vol_iii.pdf

RESTREPO BETANCUR, Fernando. “Preferencia por los colores en universitarios de la ciudad de Medellin, Colombia”. *Anuario Electrónico de Estudios en Comunicaciones Social*

“Disertaciones” [en línea], 2022, (Colombia) 15(1), pp. 1-15. [Consulta: 19 noviembre 2022]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=511569019008>

ROBLES VÉLEZ, Tania Paola. Estudio del Cauje (*Pouteria caimito*) como alimento gastronómico nutricional en escolares de 6 a 12 años de la escuela “León de Febres Cordero” en la Ciudad de Guayaquil [en línea] (Trabajo de titulación). (Pregrado) Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador. 2020. p. 1. [Consulta: 19 noviembre 2022]. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/49603/1/BINGQ-GS-20P48.pdf>

RODRÍGUEZ NODALS, Adolfo; & SÁNCHEZ PÉREZ, Pedro. *Especies de Frutales cultivadas en Cuba en la agricultura urbana y suburbana.* [Blog]. 2005. [Consulta: 9 de marzo 2022]. Disponible en: <https://www.ecured.cu/index.php/Ab%C3%ADo>

ROMERO, Galicia; et al. “Evaluación de la calidad e inocuidad de la panela de Veracruz, México”. *Agro productividad* [en línea], 2017, (México) 10(11), p. 38. [Consulta: 19 octubre 2022]. Disponible en: <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/68>

ROSA, Damiana; et al. “Milk Kefir: nutritional, microbiological and health benefits”. *Nutr Res Rev.* [en línea], 2017, (Brazil) 30(1), pp. 82-96. [Consulta: 17 octubre 2022]. Disponible en: [10.1017/S0954422416000275](https://doi.org/10.1017/S0954422416000275)

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: 21 octubre 2022]. Disponible en: <http://repositorio.ucp.edu.pe/bitstream/handle/UCP/274/SOTIL-1-TrabajoAn%C3%A1lisis.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

STRADA, Rafaela; et al. “Microbial profile of a kefir sample preparations - grains in natura and lyophilized and fermented suspension”. *Food Science and Technology (Campinas)* [en línea], 2010, (Brasil) 30(4), pp. 1022-1026. [Consulta: 9 mayo 2022]. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612010000400029

STOYANOVA, L. G.; et L. “Isolation and identification of lactic acid bacterias *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* with antimicrobial action”. *New of the Timiryazev Agricult. Acad* [en línea],

2017, 5, pp. 41-61. [Consulta: 22 octubre 2022]. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1134/S0026261722100885>

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: 13 noviembre 2022]. Disponible en: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1742-6596/1823/1/012038/pdf>

TALIB, Noorshafadzilah; et al. “Isolation and Characterization of *Lactobacillus* spp. From Kefir Samples in Malaysia”. *Molecules* [en línea], 2019, (Malaysia) 24(14), p. 2606. [Consulta: 21 octubre 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/molecules24142606>

TEIXEIRA MAGALHÃES, Karina; et al. “Brazilian kefir: structure, microbial communities and chemical composition”. *Brazilian Journal of Microbiology* [en línea], 2011, (Brasil) 42(2), pp. 693-702. [Consulta: 20 marzo 2022]. Disponible en: <https://www.scielo.br/j/bjm/a/rkgmKTwm7KCpRTqgn6X76jQ/?lang=en>

TIRADO VERA, Jhon Washington; & ZAMBRANO LOOR, María Mercedes. Efectos Físicoquímicos, Microbiológicos y Organolépticos del Kéfir y Biocompuestos de Hierba Luisa (*Cymbopogon citratus*) y Chaya (*Cnidoscopus chayamansa*) en una bebida [en línea] (Trabajo de titulación). (Maestría), Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí, Manabí, Ecuador. 2021. pp. 34-64. [Consulta: 20 octubre 2022]. Disponible en: <https://repositorio.espam.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/42000/1580/TTMAI22D.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

TODAR, Kenneth Gregory. *Todar's online textbook of bacteriology* [en línea]. Madison-United States of America: Kenneth Todar University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology, [Wisconsin], 2005. [Consulta: 17 octubre 2022]. Disponible en: <http://www.textbookofbacteriology.net>.

TRIWIBOWO, Bayu; et al. “The effect of Kefir grain concentration and Fermentation duration on characteristics of cow milk-based kefir”. *Journal of Physics: Conference Series* [en línea], 2020, (Indonesia), p. 1444. [Consulta: 21 octubre 2022]. Disponible en: [10.1088/1742-6596/1444/1/012001](https://doi.org/10.1088/1742-6596/1444/1/012001)

USDA. *Soil Taxonomy: A Basic System of Soil Classification for Making and Interpreting Soil Surveys*. Washington, DC: U.S. Government Printing Office. Agosto (1997). [Consulta: 10 de mayo del 2022]. Disponible en: https://www.nrcs.usda.gov/Internet/FSE_DOCUMENTS/nrcs142p2_051284.pdf

VÁZQUEZ H. J.; & 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. 249-259. [Consulta: 10 de mayo del 2022]. ISSN: 1405-7743. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/404/40480404.pdf>

WALDHERR, Florian; et al. “Identification and characterization of a glucan-producing enzyme from *Lactobacillus hilgardii* TMW 1.828 involved in granule formation of water kefir”. *Food Microbiology* [en línea], 2010 (Germany) 27(5), pp. 672–678. [Consulta: 9 mayo 2022]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20510787>

ZONGO, Oumarou; et al. “Physicochemical composition and fermentatation kinetics of a novel Palm Sap-based Kefir Beverage from the Fermentation of *Borassus aethiopum* Mart. Fresh sap with kéfir grains and ferments”. *Scientific African* [en línea], 2020 (France) 27(5), p. 5. [Consulta: 18 octubre 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2020.e00631>

ANEXOS

ANEXO A: ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LA CARACTERIZACIÓN DE LA PULPA DE CAUJE

Variables	Repeticiones				Suma	Promedio	Desviación Estándar
	I	II	III	IV			
Humedad %	80,76	81,7	80,9	81,02	324,38	81,10	0,42
Azúcares totales %	10,2	10,7	10,5	10,9	42,30	10,58	0,30
Proteína %	0,85	1,07	1,04	1,17	4,13	1,03	0,13
Fibra %	0,97	1,31	1,14	1,09	4,52	1,13	0,14

ANEXO B: RESULTADOS FISICOQUÍMICOS DE LA BEBIDA FUNCIONAL ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CAUJE

Inicial

TRATAMIENTOS	REPETICIONES	Acidez (g/L)	Sólidos solubles (°Brix)	pH
0	R1	0,99	10	5,5
0	R2	0,9	10,5	5,6
0	R3	0,9	10,5	5,2
0	R4	1,08	10,5	5,7
10	R1	0,18	1	5,5
10	R2	0,27	1	5,6
10	R3	0,18	1	5,5
10	R4	0,18	1	5,5
20	R1	0,72	2	5,4
20	R2	0,81	2,5	4,9
20	R3	0,81	2,5	4,8
20	R4	0,81	2,8	4,8
30	R1	0,72	3,5	5,1
30	R2	0,72	3,5	5
30	R3	0,81	3,5	5
30	R4	0,81	3,5	4,9

48 horas de fermentación

48 horas de Fermentación				
TRATAMIENTOS	REPETICIONES	pH	Acidez (g/L)	Sólidos solubles (°Brix)
0	R1	3,1	3,60	7,5
0	R2	3,4	4,05	7
0	R3	3,3	3,60	7
0	R4	3,3	3,15	7,5
10	R1	3,1	1,08	0,4
10	R2	3,1	0,99	0,4
10	R3	3,2	0,90	0,4
10	R4	3,1	1,17	0,1
20	R1	3,2	1,35	0,5
20	R2	3,2	1,89	0,7
20	R3	3,2	1,71	0,8
20	R4	3,2	1,71	0,4
30	R1	3,3	1,80	1,1
30	R2	3,5	1,80	0,9
30	R3	3,4	1,62	1,1
30	R4	3,7	1,35	1

ANEXO C: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA ACIDEZ DE LA BEBIDA FUNCIONAL ELABORADO CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CAUJE

Inicial

Resultados experimentales

Niveles de pulpa de cauje	REPETICIONES				SUMA	PROMEDIO
	I	II	III	IV		
0%	0,99	0,9	0,9	1,08	3,87	0,97
10%	0,18	0,27	0,18	0,18	0,81	0,20
20%	0,72	0,81	0,81	0,81	3,15	0,79
30%	0,72	0,72	0,81	0,81	3,06	0,77

Coefficiente de variación (C.V.)

8,75

Análisis de varianza

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamientos	1,32	3	0,44	123,95	<0,0001
Error	0,04	12	3,50E-03		
Total	1,36	15			

Prueba de Separación de medias (DUNCAN=0,05)

Tratamientos	Medias	n	E.E.	RANGO
T0	0,97	4	0,03	A
T2	0,79	4	0,03	B
T3	0,77	4	0,03	B
T1	0,2	4	0,03	C

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

48 horas de Fermentación

Resultados experimentales

Niveles de pulpa de cauje	REPETICIONES				SUMA	PROMEDIO
	I	II	III	IV		
0%	3,6	4,05	3,6	3,15	14,4	3,60
10%	1,08	0,99	0,9	1,17	4,14	1,04
20%	1,35	1,89	1,71	1,71	6,66	1,67
30%	1,8	1,8	1,62	1,35	6,57	1,64

Coefficiente de variación (C.V.)

12,46

Análisis de varianza

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamientos	14,92	3	4,97	81,2	<0,0001
Error	0,74	12	0,06		
Total	15,66	15			

Prueba de Separación de medias (DUNCAN=0,05)

Tratamientos	Medias	n	E.E.	RANGO
T0	3,6	4	0,12	A
T2	1,67	4	0,12	B
T3	1,64	4	0,12	B
T1	1,04	4	0,12	C

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

ANEXO D: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS SÓLIDOS SOLUBLES DE LA BEBIDA ELABORADO CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CAUJE

Inicial

Resultados experimentales

Niveles de pulpa de cauje	REPETICIONES				SUMA	PROMEDIO
	I	II	III	IV		
0%	10	10,5	10,5	10,5	41,5	10,38
10%	1	1	1	1	4	1,00
20%	2	2,5	2,5	2,8	9,8	2,45
30%	3,5	3,5	3,5	3,5	14	3,50

Coefficiente de variación (C.V.)

4,79

Análisis de varianza

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamientos	207,42	3	69,14	1603,22	<0,0001
Error	0,52	12	0,04		
Total	207,93	15			

Prueba de Separación de medias (DUNCAN=0,05)

Tratamientos	Medias	n	E.E.	RANGO
T0	10,38	4	0,1	A
T3	3,5	4	0,1	B
T2	2,45	4	0,1	C
T1	1	4	0,1	D

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

48 horas de Fermentación

Resultados experimentales

Niveles de pulpa de cauje	REPETICIONES				SUMA	PROMEDIO
	I	II	III	IV		
0%	7,5	7	7	7,5	29	7,25
10%	0,4	0,4	0,4	0,1	1,3	0,33
20%	0,5	0,7	0,8	0,4	2,4	0,60
30%	1,1	0,9	1,1	1	4,1	1,03

Coefficiente de variación (C.V.)

8,37

Análisis de varianza

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamientos	131,68	3	43,89	1183,6	<0,0001
Error	0,45	12	0,04		
Total	132,12	15			

Prueba de Separación de medias (DUNCAN=0,05)

Tratamientos	Medias	n	E.E.	RANGO
T0	7,25	4	0,1	A
T3	1,03	4	0,1	B
T2	0,6	4	0,1	C
T1	0,33	4	0,1	C

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

**ANEXO E: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL pH DE LA BEBIDA FUNCIONAL
ELABORADO CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CAUJE**

Inicial

Resultados experimentales

Niveles de pulpa de cauje	REPETICIONES				SUMA	PROMEDIO
	I	II	III	IV		
0%	5,5	5,6	5,2	5,7	22	5,50
10%	5,5	5,6	5,5	5,5	22,1	5,53
20%	5,4	4,9	4,8	4,8	19,9	4,98
30%	5,1	5	5	4,9	20	5,00

Coefficiente de variación (C.V.)

3,54

Análisis de varianza

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamientos	1,11	3	0,37	10,65	0,0011
Error	0,42	12	0,03		
Total	1,52	15			

Prueba de Separación de medias (DUNCAN=0,05)

Tratamientos	Medias	n	E.E.	RANGO
T1	5,53	4	0,09	A
T0	5,5	4	0,09	A
T3	5	4	0,09	B
T2	4,98	4	0,09	B

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

48 horas de Fermentación

Resultados experimentales

Niveles de pulpa de cauje	REPETICIONES				SUMA	PROMEDIO
	I	II	III	IV		
0%	3,1	3,4	3,3	3,3	13,1	3,28
10%	3,1	3,1	3,2	3,1	12,5	3,13
20%	3,2	3,2	3,2	3,2	12,8	3,20
30%	3,3	3,5	3,4	3,7	13,9	3,48

Coefficiente de variación (C.V.)

3,33

Análisis de varianza

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamientos	0,27	3	0,09	7,63	0,0041
Error	0,14	12	0,01		
Total	0,41	15			

Prueba de Separación de medias (DUNCAN=0,05)

Tratamientos	Medias	n	E.E.	RANGO
T3	3,48	4	0,05	A
T0	3,28	4	0,05	B
T2	3,2	4	0,05	B
T1	3,13	4	0,05	B

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

ANEXO F: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LAS BACTERIAS ÁCIDO-LÁCTICAS EN LA BEBIDA ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CAUJE

Resultados experimentales

Niveles de pulpa de cauje	REPETICIONES				SUMA	PROMEDIO
	I	II	III	IV		
0%	360000000	302000000	430000000	260000000	1352000000	3,38E+08
10%	110000000	510000000	410000000	81000000	939100000	2,35E+09
20%	390000000	320000000	340000000	450000000	1500000000	3,75E+09
30%	2700000	4900000	440000000	3300000	444060000	1,11E+09

Análisis de varianza

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamientos	2,67E+19	3	8,91E+18	2,95	0,0756
Error	3,62E+19	12	3,02E+18		
Total	6,30E+19	15			

Prueba de Separación de medias (DUNCAN=0,05)

Tratamientos	Medias	n	E.E.	RANGO
T2	3750000000	4	869011135,3	A
T1	2347750000	4	869011135,3	A
T3	1110150000	4	869011135,3	A
T0	3380000000	4	869011135,3	A

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

ANEXO G: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LAS LEVADURAS EN LA BEBIDA FUNCIONAL ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CAUJE

Resultados experimentales

Niveles de pulpa de cauje	REPETICIONES				SUMA	PROMEDIO
	I	II	III	IV		
0%	2600000000	690000000	380000000	120000000	3169000000	792250000
10%	200000000	580000000	490000000	680000000	717000000	179250000
20%	1640000000	1500000000	2100000000	800000000	604000000	151000000
30%	2700000000	2200000000	2500000000	490000000	7449000000	1862250000

Análisis de varianza

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamientos	7,69E+18	3	2,56E+18	3,36	0,055
Error	9,15E+18	12	7,62285E+17		
Total	1,68E+19	15			

Prueba de Separación de medias (DUNCAN=0,05)

Tratamientos	Medias	n	E.E.	RANGO
T3	1862250000	4	436544581,8	A
T0	792250000	4	436544581,8	A
T1	179250000	4	436544581,8	A
T2	151000000	4	436544581,8	A

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

ANEXO H: ANÁLISIS ESTADÍSTICO, AEROBIOS MESÓFILOS EN LA BEBIDA FUNCIONAL ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CAUJE

Resultados experimentales

Niveles de pulpa de cauje	REPETICIONES				SUMA	PROMEDIO
	I	II	III	IV		
0%	1300000	1900000	1700000	1800000	6700000	1675000
10%	3200000	5600000	4600000	5000000	18400000	4600000
20%	3200000	3100000	6700000	7800000	20800000	5200000
30%	7900000	5700000	8500000	3500000	25600000	6400000

Análisis de varianza

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamientos	4,8347E+13	3	1,6116E+13	5,33	0,0145
Error	3,6308E+13	12	3,0256E+12		
Total	8,4654E+13	15			

Prueba de Separación de medias (DUNCAN=0,05)

Tratamientos	Medias	n	E.E.	RANGO
T3	6400000	4	869716,19	A
T2	5200000	4	869716,19	A
T1	4600000	4	869716,19	A
T0	1675000	4	869716,19	B

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

**ANEXO I: RESULTADO DE LA VALORACIÓN SENSORIAL EN LA BEBIDA
FUNCIONAL ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE
CAUJE**

PANELISTAS	COLOR				OLOR				SABOR			
	128	248	220	191	128	248	220	191	128	248	220	191
1	1	4	2	2	3	4	3	3	5	1	2	2
2	5	4	4	4	3	3	4	3	5	2	3	3
3	4	4	1	4	3	3	1	4	5	2	1	4
4	4	3	4	4	5	3	3	3	4	1	1	2
5	2	3	4	4	3	4	3	3	4	1	3	1
6	3	4	5	3	4	2	3	3	4	1	2	2
7	4	3	3	4	4	2	4	3	3	2	3	2
8	3	4	3	5	4	2	4	4	4	2	1	3
9	4	2	4	3	2	3	2	3	2	1	3	2
10	3	4	5	2	4	2	5	2	5	1	3	1
11	5	1	4	1	4	1	3	1	4	1	3	1
12	4	3	3	2	3	3	3	3	4	1	2	1
13	4	2	2	2	4	3	2	3	4	2	1	2
14	4	4	3	3	4	3	2	3	4	2	1	4
15	5	2	3	3	4	5	5	4	4	1	1	2
16	4	3	4	3	4	3	4	4	3	1	3	3
17	4	4	2	2	2	4	2	3	4	1	1	1
18	4	3	3	3	5	2	2	3	5	2	2	2
19	5	2	2	2	4	3	2	3	5	1	2	2
20	4	2	2	3	3	4	3	3	5	1	1	3
21	5	4	1	4	3	5	1	4	4	2	1	2
22	3	4	2	2	1	2	3	5	2	1	2	2
23	2	3	4	3	3	3	3	3	3	1	2	1
24	4	3	4	3	3	5	3	5	2	2	2	2
25	4	4	3	2	1	4	3	3	2	2	3	2
26	4	4	4	4	4	2	4	4	5	1	2	2
27	4	4	4	3	2	4	3	3	2	2	2	1
28	4	4	4	4	3	4	3	3	5	1	1	1
29	5	2	3	2	4	1	3	3	4	1	3	1
30	4	4	3	5	4	2	4	5	4	1	3	4

**ANEXO J: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL COLOR DE LA BEBIDA FUNCIONAL
ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CAUJE**

Estadística descriptiva del Color de la bebida funcional

Variable	n	Media	D.E.	Mín	Máx
T0	30	3,83	0,95	1	5
T1	30	3,23	0,9	1	4
T2	30	3,17	1,05	1	5
T3	30	3,03	1	1	5

Prueba de Friedman para el Color de la bebida funcional

Tratamiento	Suma(Ranks)	Media(Ranks)	n	P-Valor	RANGO
T3	65	2,17	30	0,0098	A
T1	70,5	2,35	30		AB
T2	72,5	2,42	30		ABC
T0	92	3,07	30		D
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,050$)					

ANEXO K: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL OLOR DE LA BEBIDA FUNCIONAL

Estadística descriptiva del Olor de la bebida funcional

Variable	n	Media	D.E.	Mín	Máx
T0	30	3,33	0,99	1	5
T1	30	3,03	1,1	1	5
T2	30	3	0,98	1	5
T3	30	3,3	0,84	1	5

Prueba de Friedman para el Olor de la bebida funcional

Tratamiento	Suma(Ranks)	Media(Ranks)	n	P-Valor	RANGO
T2	68,5	2,28	30	0,6438	A
T1	75	2,5	30		A
T3	78	2,6	30		A
T0	78,5	2,62	30		A

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

ANEXO L: ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL SABOR DE LA BEBIDA FUNCIONAL ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CAUJE

Estadística descriptiva del Sabor de la bebida funcional

Variable	n	Media	D.E.	Mín	Máx
T0	30	3,87	1,04	2	5
T1	30	1,37	0,49	1	2
T2	30	2	0,83	1	3
T3	30	2,03	0,93	1	4

Prueba de Friedman para el Sabor de la bebida funcional

Tratamiento	Suma(Ranks)	Media(Ranks)	n	P-Valor	RANGO
T1	48,5	1,62	30	<0,0001	A
T3	70	2,33	30		B
T2	71	2,37	30		BC
T0	110,5	3,68	30		D

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

ANEXO M: CARACTERIZACIÓN DEL CAUJE



Humedad

Proteína

Fibra

ANEXO N: ELABORACIÓN DE LA BEBIDA FUNCIONAL CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CAUJE



Desinfección



Pesado



Lavado



Blanqueado



Pelado



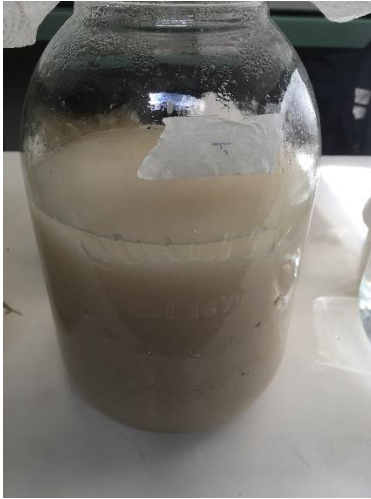
Licudo



Pasteurización



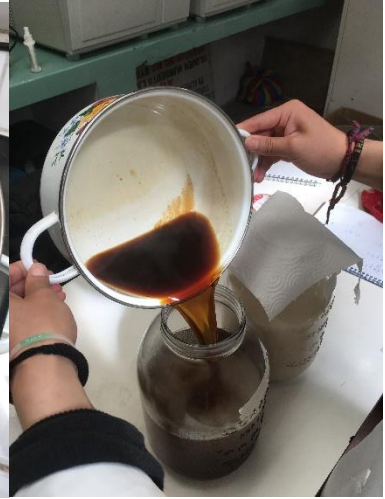
Adición



Mezclado



Dilución-Panela



Mezclado



Dosificación



Pesado



Inoculación



Fermentación

ANEXO Ñ: PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS DE LA BEBIDA FUNCIONAL ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CAUJE



Acidez

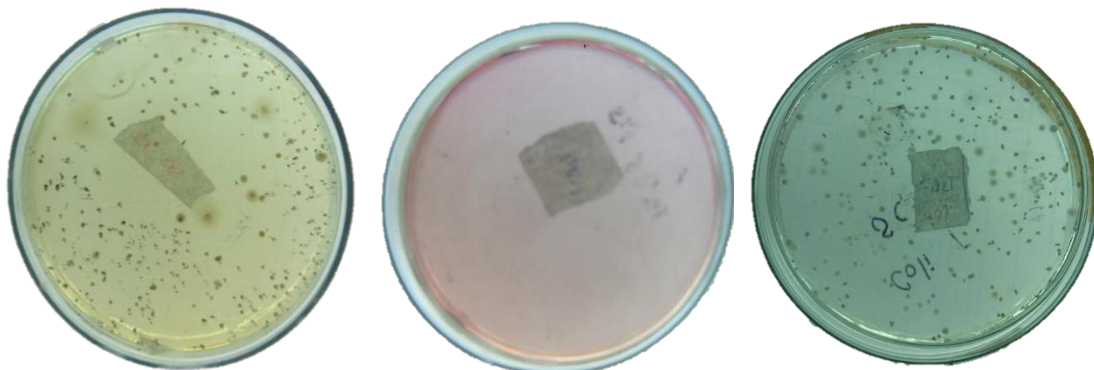
pH

Sólidos Solubles

ANEXO O: PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS DE LA BEBIDA FUNCIONAL ELABORADA CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CAUJE



Dilución, siembra y conteo de Microorganismos



BAL

Coliformes Totales

Levaduras

**ANEXO P: ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO DE LA BEBIDA FUNCIONAL ELABORADA
CON DIFERENTES NIVELES DE PULPA DE CAUJE**

