

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA Y METALURGIA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA
AGROINDUSTRIAL**



TESIS:

**Evaluación fisicoquímica y funcional del kéfir de agua con
mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* R.et P.), yacón
(*Smallanthus sonchifolius*) y espirulina (*Spirulina*)**

Para optar el título profesional de:

INGENIERA AGROINDUSTRIAL

PRESENTADO POR:

Bach. Lisbeth Anabel CUBA SOSA

ASESOR:

MSc. Percy Fermín VELÁSQUEZ CCOSI

AYACUCHO - PERÚ

2024

DEDICATORIA

A mis padres, con todo mi amor y gratitud:
Aviliano Cuba y Basilia Sosa quienes son mi
fuente de apoyo y fortaleza inagotable
impulsándome a lograr mis metas académicas;
a mis hermanos Drina, Daniel y Lian mis
compañeros de vida.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga por ser el lugar donde formé mi carrera profesional

A la escuela de Ingeniería Agroindustrial y sus docentes por las enseñanzas impartidas para completar mi formación profesional.

Al Ing. Msc Percy Fermín Velásquez Ccosi mi infinita gratitud por su asesoramiento, respaldo y constante seguimiento que fue imprescindible para el logro de los objetivos establecidos en esta investigación.

A la Mg. Paula García Godos Alcázar por el apoyo en la parte microbiológica cuyas observaciones y correcciones contribuyeron en la materialización de esta investigación.

RESUMEN

El estudio tuvo como objetivo evaluar el impacto de las diferentes proporciones de harina de mashua negra, yacón y espirulina en las características fisicoquímicas (ácido láctico, pH y °Brix), la actividad y viabilidad de bacterias ácido lácticas (UFC/ml) y los atributos sensoriales (olor, color y sabor). Se empleó un diseño de mezclas tipo vértices extremos para determinar las proporciones de cada sustrato en 8 tratamientos y un control con el uso del software Minitab. Se realizó un Análisis de Varianza (ANOVA), seguido una comparación de medias por Tukey para determinar diferencias significativas. Se llevó a cabo un proceso de deshidratación para obtener harinas de mashua negra y yacón las cuales se emplearon como sustratos en el estudio y se procedió a medir las humedades de harina de mashua negra, yacón y espirulina. Luego, se procedió a realizar la formulación de medios de los sustratos y sacarosa (12%) e inocular los granos de kéfir (15%) en esta solución preparada, se realizó una primera fermentación F1 a temperatura ambiente 19°C de la ciudad de Huamanga-Ayacucho por 72 horas y una segunda fermentación F2 por 21 días refrigeradas a 7 °C.

Los resultados para humedad de las harinas de mashua negra, yacón y espirulina fueron $8,33 \pm 0,04$; $7,22 \pm 0,05$ y $5,06 \pm 0,06$ respectivamente. En caso de los resultados de las evaluaciones fisicoquímicas se obtuvo que el T4 tuvo un mayor producción de ácido láctico con 1,1% mientras que el T5 tuvo menor contenido de ácido láctico con 0,65% mientras que para °Brix el T7 tuvo un mayor contenido con 9,20 mientras que el T1 tuvo un menor contenido con 7,0 y para pH el T2 tuvo mayor valor de 4,09 y el T8 con un valor menor de 2,98. En las características microbiológicas se observó ausencia de coliformes totales y mohos, un indicador de que el kéfir de agua con estos sustratos se elaboró en condiciones higiénicas apropiadas. Respecto al recuento de bacterias ácido lácticas los resultados tuvieron una mayor cantidad en el T1 con $9,45 \times 10^7$ y un menor recuento en el T8 con $9,50 \times 10^6$ UFC/ml. En las características organolépticas, las estimaciones varían de regular a muy bueno teniendo resultados de mayor preferencia el T3 y el T7 en olor color y sabor con mayor predominancia la harina de mashua negra; asimismo se realizó un diseño óptimo de experimentos DOE determinando que las proporciones óptimas de harina de mashua negra, yacón y espirulina con 2,4625% y 0,075% respectivamente pueden influir en las características fisicoquímicas con mayor estabilidad. El kéfir de agua mostró resultados favorables con sustratos de mashua negra, yacón y espirulina utilizado recomendando su consumo como bebida probiótica y funcional.

Palabras clave: Fermentación, Kéfir de agua, sustratos, proporciones, características fisicoquímicas, bacterias ácido lácticas.

ABSTRACT

The study aimed to evaluate the impact of the different proportions of black mashua flour, yacon and spirulina on the physicochemical characteristics (lactic acid, pH and °Brix), the activity and viability of lactic acid bacteria (CFU/ml) and the sensory attributes (odor, color and flavor). An extreme vertex type mixture design was used to determine the proportions of each substrate in 8 treatments and a control with the use of the Minitab software. An Analysis of Variance (ANOVA) was performed, followed by a comparison of means by Tukey to determine significant differences. A dehydration process was carried out to obtain black mashua and yacon flours which were used as substrates in the study and the moisture content of black mashua, yacon and spirulina flour was measured. Then, the media formulation of the substrates and sucrose (12%) was carried out and the kefir grains (15%) were inoculated in this prepared solution. A first F1 fermentation was carried out at room temperature 19°C in the city of Huamanga-Ayacucho for 72 hours and a second F2 fermentation for 21 days refrigerated at 7 °C.

The results for moisture of the black mashua, yacon and spirulina flours were 8.33 ± 0.04 , 7.22 ± 0.05 and 5.06 ± 0.06 respectively. In the case of the results of the physicochemical evaluations, it was obtained that T4 had a higher production of lactic acid with 1.1% while T5 had a lower lactic acid content with 0.65% while for °Brix, T7 had a highest content with 9.20 while T1 had a lower content with 7.0 and for pH, T2 had a higher value of 4.09 and T8 with a lower value of 2.98. In the microbiological characteristics, the absence of total coliforms and molds was observed, an indicator that the water kefir with these substrates was made under appropriate hygienic conditions. Regarding the count of lactic acid bacteria, the results had a higher amount in T1 with 9.45×10^7 and a lower count in T8 with 9.50×10^6 CFU/ml. In the organoleptic characteristics, the estimates vary from fair to very good, with T3 and T7 being more preferred in smell, color and flavor, with black mashua flour predominating; Likewise, an optimal design of DOE experiments was carried out, determining that the optimal proportions of black mashua flour, yacon and spirulina with 2.4625% and 0.075% respectively can influence the physicochemical characteristics with greater stability. Water kefir showed favorable results with black mashua, yacon and spirulina substrates used, recommending its consumption as a probiotic and functional drink.

Keywords: Fermentation, Water kefir, substrates, proportions, physicochemical characteristics, lactic acid bacteria.

ÍNDICE

	Página
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
RESUMEN	iv
ABSTRACT	v
INTRODUCCIÓN	1
I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	2
1.1.DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA.....	2
1.2.FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	3
1.2.1.Problema principal.....	3
1.2.2.Problemas secundarios	3
1.3.OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	3
1.3.1.Objetivo general	3
1.3.2.Objetivos específicos.....	3
1.4.HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN	4
1.4.1.Hipótesis general.....	4
1.4.2.Hipótesis específica.....	4
1.5.JUSTIFICACIÓN	4
II.MARCO TEÓRICO.....	6
2.1.ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN	6
2.1.1.Internacional.....	6
2.1.2.Nacional	8
2.1.3. Local	10
2.2.BASES TEÓRICAS	10
2.2.1.Kéfir de agua.....	10
2.2.2.Composición microbiológica del kéfir de agua.....	12
2.2.3.Fermentación del kéfir	13
2.2.4.Elaboración tradicional del kéfir de agua	15
2.2.5.Avances en la producción del kéfir de agua	16
2.2.6.Sustratos para la fermentación del kéfir de agua.....	16
2.2.7.Sustrato.....	16
2.2.8.Sacarosa.....	16
2.2.9.Mashua negra	17
2.2.10.Yacón (Smallanthus sonchifolius).....	19

2.2.11.Espirulina	21
2.2.12.Importancia de la espirulina.....	23
2.2.13.Alimentos funcionales.....	23
2.2.14.Fermentación	23
2.2.15.Fermentación alcohólica.....	24
2.2.16. Fermentación láctica	24
2.2.16.Fermentación acética	24
2.2.17.Evaluación sensorial.....	25
2.2.18.Escala hedónica	25
2.3.MARCO CONCEPTUAL.....	25
III.MATERIALES Y MÉTODOS	27
3.1.LUGAR DE EJECUCIÓN Y DURACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....	27
3.2.EQUIPOS, MATERIALES E INSUMOS.....	27
3.2.1.Equipos	27
3.2.2.Materiales.....	27
3.2.3.Insumos y reactivos.....	28
3.3.POBLACION Y MUESTRA.....	29
3.3.1.Población	29
3.3.2.Muestra	29
3.4.TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN.....	29
3.5.DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.....	29
3.6.VARIABLES E INDICADORES	29
3.6.1.Variable independiente.....	29
3.6.2.Variable dependiente.....	30
3.7.OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....	30
3.8.DISEÑO EXPERIMENTAL	30
3.9.PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.....	32
3.9.1.Preparación de sustratos.....	32
3.9.2.Formulación de sustratos y sacarosa	34
3.9.3.Fermentación	35
3.10.TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	35
3.10.1.Determinación de humedad de la harina de mashua negra y yacón.....	35
3.10.2.Análisis fisicoquímico de la bebida fermentada	35
3.10.3.Análisis microbiológico	36
3.10.4.Análisis sensorial.....	38

3.11.DISEÑO ÓPTIMO DE EXPERIMENTOS DOE EN LA EVALUACIÓN DE DATOS.....	38
3.11.1.Modelización del experimento	38
3.12.ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	39
3.13.TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS	39
IV.RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	40
4.1.Determinación de humedad de la harina de mashua negra,yacón y espirulina.	40
4.2.Análisis fisicoquímico de la primera fermentación (F1)	40
4.2.1.Acidez titulable (Ácido láctico %) de la primera fermentación (F1).....	41
4.2.2.Sólidos solubles (°Brix) de la primera fermentación (F1)	42
4.2.3.pH de la primera fermentación (F1)	44
4.3.Análisis fisicoquímico de la segunda fermentación (F2)	45
4.3.1.Acidez titulable (% Ácido láctico) de la segunda fermentación (F2)	45
4.3.2.Sólidos solubles (°Brix) en la segunda fermentación (F2).....	47
4.3.3.pH en la segunda fermentación (F2)	48
4.4.Análisis microbiológico	50
4.4.1.Bacterias ácido lácticas (UFC/ml).....	50
4.4.2.Mohos	52
4.4.3.Coliiformes totales.....	52
4.5.Análisis sensorial de la bebida fermentada.....	52
4.5.1.Olor.....	53
4.5.2. Color	54
4.5.3. Sabor.....	55
4.6. Diseño de optimización de proporciones de mashua negra,yacón y espirulina	56
CONCLUSIONES	57
RECOMENDACIONES	58
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
ANEXOS.....	68

LISTA DE TABLAS

	Página
Tabla 1 Composición química del kéfir de agua.....	11
Tabla 2 Bacterias y levaduras en los granos de kéfir	12
Tabla 3 Cepas en los granos de kéfir.....	13
Tabla 4 Composición química de la sacarosa por cada 100g	17
Tabla 5 Clasificación taxonómica de la mashua negra.....	17
Tabla 6 Compuestos nutricionales de la mashua negra.....	18
Tabla 7 Composición fisicoquímica de la mashua negra.....	18
Tabla 8 Composición química de harina de mashua en 100 g de muestra	19
Tabla 9 Clasificación taxonómica del yacón.....	20
Tabla 10 Composición química del yacón (%)	20
Tabla 11 Composición nutricional del yacón	21
Tabla 12 Características fisicoquímicas de la harina de yacón	21
Tabla 13 Clasificación taxonómica de la espirulina	22
Tabla 14 Composición química de la espirulina	22
Tabla 15 Operacionalización de variables.....	30
Tabla 16 Formulación de sustratos en base a diferentes proporciones.....	31
Tabla 17 Humedad de la harina de mashua negra y yacón	40
Tabla 18 Resultados para Ácido láctico (%), °Brix y pH	40
Tabla 19 Resultados obtenidos para la acidez titulable evaluadas en 1,7,14 y 21 días	45
Tabla 20 Resultados obtenidos en sólidos solubles °Brix en 1,7,14 y 21 días.....	47
Tabla 21 Resultados obtenidos del pH en la segunda fermentación	48
Tabla 22 Carga microbiana evaluadas en 7,14 y 21 días.....	50
Tabla 23 Resultado de las evaluaciones sensoriales	52

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 Proceso metabólico de la glucólisis y generación de ácido láctico del kéfir de agua.....	14
Figura 2 Procedimientos para la producción de kéfir de agua	15
Figura 3 Representación gráfica del diseño de mezclas tipo vértices extremos.....	31
Figura 4 Diagrama de flujo del desarrollo experimental	32
Figura 5 Comparación del incremento de ácido láctico % inicial y 72 horas de fermentación	41
Figura 6 Comparación de la disminución de °Brix inicial y 72 horas de fermentación	42
Figura 7 Comparación en la disminución de pH inicial y 72 horas de fermentación	44
Figura 8 Comparación del incremento en ácido láctico evaluadas en 1,7,14 y 21 días	46
Figura 9 Comparación de la disminución de °Brix evaluadas en 1,7,14 y 21 días .	47
Figura 10 Comparación de la disminución del pH evaluadas en 1,7,14 y 21 días..	49
Figura 11 Comparación de disminución de carga microbiana UFC/ml.....	50
Figura 12 Comparación de preferencias en olor de la bebida fermentada	53
Figura 13 Comparaciones de preferencia de color en la bebida fermentada	54
Figura 14 Comparaciones preferencia en sabor de la bebida fermentada	55
Figura 15 Gráfico de optimización de sustratos de mashua negra, yacón y espirulina	56

LISTA DE ANEXOS

- Anexo 1 Proceso de secado y obtención de harina de yacón y mashua negra
- Anexo 2 Proceso de elaboración del kéfir de agua con mashua negra, yacón y espirulina
- Anexo 3 Determinación de acidez titulable, pH y °Brix del kéfir de agua con sustratos
- Anexo 4 Recuento de bacterias ácido lácticas en placas Petri
- Anexo 5 Degustación de los tratamientos del kéfir de agua con sustratos
- Anexo 6 Datos de la evaluación sensorial para olor, color y sabor del kéfir de agua
- Anexo 7 Análisis de varianza y prueba de Tukey de producción de ácido láctico %, pH, °Brix de tiempo inicial y a las 72 horas
- Anexo 8 Análisis de varianza en la producción de ácido láctico % evaluadas en 1,7,14 y 21 días.
- Anexo 9 Análisis de varianza y prueba de Tukey de producción de sólidos solubles °Brix evaluadas en 1,7,14 y 21 días
- Anexo 10 Análisis de varianza y prueba de Tukey de producción de sólidos solubles pH evaluadas en 1,7,14 y 21 días
- Anexo 11 Análisis de varianza y prueba de Tukey de la evaluación sensorial para olor
- Anexo 12 Análisis de varianza y prueba de Tukey de la evaluación sensorial para color
- Anexo 13 Análisis de varianza y prueba de Tukey de la evaluación sensorial para sabor
- Anexo 14 Coeficientes del diseño de optimización de mashua negra, yacón y espirulina
- Anexo 15 Resultados de análisis microbiológico del laboratorio de Biotecnología- UNSCH del kéfir de agua con sustratos.

INTRODUCCIÓN

El kéfir de agua es “una bebida fermentada medianamente ácida, producida por un consorcio de microorganismos, principalmente bacterias ácido lácticas (BAL) y levaduras insertadas en un polisacárido llamado gránulos de kéfir”.(Caro y León, 2015).El consumo de kéfir (microorganismo aislado o producto fermentado) puede aumentar el número de bifidobacterias en el colon y aumentar el control glucémico, equilibrando la microbiota intestinal y el sistema inmunológico. (Buranelo et al., 2022).

Para Esatbeyoglu et al., (2023) nos dice que “la atención en la ingesta de alimentos saludables y funcionales junto con la elaboración casera de productos fermentados ha aumentado recientemente, es así que el kéfir de agua ha ganado especial atención entre estos productos y actualmente en todo el mundo”. De acuerdo a los estudios realizados a cerca del kéfir de agua, suele producirse de manera artesanal y el entorno de fermentación suele ser variable, la composición microbiana de los granos y la bebida fermentada depende principalmente de las condiciones de fermentación, como el tiempo y la temperatura, así como de diferentes sustratos, como la fuente de azúcares, frutas y verduras. (Laurey et al., 2018). El interés de realizar esta investigación radica en contribuir al conocimiento sobre el kéfir de agua puesto que es poco conocido y consumido en el Perú añadido a eso con una innovación de sustratos.

Como parte de la estructura de esta investigación se tiene en capítulo I el planteamiento del problema que se pretende resolver y objetivos trazados para esta investigación. En el capítulo II se presenta el marco teórico en donde se aprecia los trabajos de investigación previos, relacionados al kéfir de agua con diversos sustratos. En el capítulo III se presenta la metodología utilizada para esta investigación en donde abarca el lugar y duración donde se realizará las evaluaciones, además se da conocer los materiales, equipos y reactivos que serán utilizados. El diseño experimental para esta investigación será un diseño de mezclas de vértices extremos que consistió en la combinación o mezcla específica de sustratos (mashua negra, yacón y espirulina) para cada tratamiento y finalmente se detallan los métodos para las evaluaciones fisicoquímicas, funcionales y sensoriales que se aplicarán al kéfir de agua en la fermentación con los sustratos propuestos acompañada de un análisis estadístico y comprobar los efectos significativos.

Finalmente, en el capítulo IV se presentan los resultados obtenidos como parte del planteamiento del problema utilizado y los objetivos trazados aplicados con la metodología propuesta que servirán como base para investigaciones futuras con sustratos innovadores.

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

Durante la pandemia del COVID-19, se observó una creciente demanda por los alimentos de origen natural que tengan la capacidad de mejorar la salud, es así que muchas personas se interesan por los productos fermentados como el kéfir de agua ya que este no procede de origen animal (dietas vegetarianas o veganas) y por personas que son intolerantes a la lactosa. Moretti et al. (2022)

Según el medio de comunicación El Comercio, (2019) menciona que Kantar Worldpanel al realizar una encuesta a las familias peruanas que consumen leche en el desayuno afirmaron que del 89% el 45% sufren de cólicos estomacales después de consumirlas siendo este síntoma de intolerancia a la lactosa. De acuerdo a los datos ya mencionados de personas que prefieren consumir alimentos veganos y los que sufren intolerancia trae como consecuencia un interés de diversificar dietas. Sin embargo, en el Perú, el consumo del kéfir de agua es poco consumido y su producción se realiza artesanalmente con escasa opción de aprovechamiento con ingredientes locales o innovadores.

Por otro lado, la mashua negra, yacón y espirulina son tres ingredientes ricos en compuestos funcionales y con beneficios para la salud, pero el uso en productos fermentados es limitado y no existen estudios previos de como estos sustratos podrían impactar en el proceso de fermentación y las características finales del kéfir de agua. La mashua negra es conocida por sus propiedades antioxidantes además de contener azúcares simples que pueden ser aprovechados para la fermentación del kéfir de agua además de dar un sabor agradable, también se tiene al yacón que es una fuente de fructooligosacáridos (FOS), que actúan como prebióticos favoreciendo el crecimiento de bacterias beneficiosas y la espirulina que aporta proteínas, vitaminas y minerales esenciales que podrían enriquecer la bebida como producto de la fermentación del kéfir de agua.

En la actualidad, no se llega a comprender del todo como los sustratos puedan llegar a afectar los parámetros fisicoquímicos (ácido láctico, pH y °Brix) y la funcionalidad del kéfir de agua relacionados con el crecimiento de bacterias ácido lácticas (BAL) y las características sensoriales de kéfir de agua ya que es posible que estos sustratos alteren el proceso de fermentación afectando la estabilidad del kéfir. Por lo tanto, el problema central de esta investigación es en como estos sustratos afectarán en las características fisicoquímicas y funcionales del kéfir de agua, así como su aceptabilidad sensorial.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.2.1. Problema principal

- ¿Cuál será el efecto en las características fisicoquímicas y funcionales del kéfir de agua con las proporciones de mashua negra, yacón y espirulina?

1.2.2. Problemas secundarios

- ¿Cuáles son las características fisicoquímicas óptimas del kéfir de agua con proporciones de mashua negra, yacón y espirulina?
- ¿Qué proporciones de mashua negra, yacón y espirulina favorecen el desarrollo, viabilidad y funcionalidad del kéfir de agua?
- ¿Qué proporciones de mashua negra, yacón y espirulina generan la mejor aceptación sensorial del kéfir de agua?
- ¿Cuáles son las proporciones óptimas de mashua negra, yacón y espirulina para maximizar las características fisicoquímicas en el kéfir de agua?

1.3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.3.1. Objetivo general

Evaluar las características fisicoquímicas y funcionales del kéfir de agua con mashua negra, yacón y espirulina.

1.3.2. Objetivos específicos

- Establecer el mejor tratamiento a partir del criterio en las características fisicoquímicas del kéfir de agua con proporciones de mashua negra, yacón y espirulina.
- Evaluar el desarrollo, viabilidad y funcionalidad de bacterias ácido lácticas (BAL) en el kéfir de agua con proporciones de mashua negra, yacón y espirulina.
- Evaluar la aceptabilidad sensorial del kéfir de agua con mashua negra, yacón y espirulina.
- Determinar las proporciones óptimas de mashua negra, yacón y espirulina en la formulación del kéfir de agua para maximizar las características fisicoquímicas.

1.4. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN

1.4.1. Hipótesis general

- Si se evalúa adecuadamente los parámetros fisicoquímicos se obtienen resultados favorables en las características fisicoquímicas y funcionales del kéfir de agua con mashua negra, yacón y espirulina.

1.4.2. Hipótesis específica

- Las diferentes proporciones de mashua negra, yacón y espirulina afectan significativamente en las características fisicoquímicas del kéfir de agua.
- Las distintas proporciones de mashua negra, yacón y espirulina afectan en el desarrollo, viabilidad y funcionalidad de bacterias ácido lácticas (BAL) del kéfir de agua.
- El kéfir de agua con proporciones de mashua negra, yacón y espirulina son evaluados en términos de sabor, olor y color en una evaluación sensorial que determinará el grado de aceptabilidad.
- La optimización de las proporciones de mashua negra, yacón y espirulina en la formulación del kéfir de agua mejora la estabilidad en las características fisicoquímicas.

1.5. JUSTIFICACIÓN

La presente investigación se justifica por el potencial que tiene el kéfir de agua como una bebida probiótica para promover la salud, mejorando funciones inmunológicas además como una alternativa de origen natural y funcional. Sin embargo, el consumo del kéfir de agua en el Perú sigue siendo limitada, en parte por la escasa disponibilidad comercial y la falta de información e innovación en el uso de sustratos propios de nuestro país que puedan enriquecer sus propiedades nutricionales y funcionales.

La mashua negra, el yacón y la espirulina como sustratos son ricos en compuestos bioactivos conocidos por propiedades beneficiosas en la salud. Sin embargo, su aplicación en la fermentación del kéfir de agua es escasa y no se conocen a detalle cuales serían los efectos que podrían tener en las características fisicoquímicas, la actividad microbiana y las características sensoriales.

Esta investigación, al evaluar cómo es que estos sustratos podrían afectar el proceso de fermentación y las características fisicoquímicas del kéfir de agua, podría sentar las

bases para el desarrollo de un producto fermentado innovador. Esto no solo llegaría a contribuir al conocimiento científico sobre la fermentación del kéfir de agua con estos sustratos, sino también tendría un impacto positivo en el mercado de bebidas funcionales ofreciendo innovación a los consumidores. Además, el uso de estos sustratos como la mashua negra y el yacón puede contribuir a la valoración de productos locales promoviendo la biodiversidad peruana y fomentar el consumo como alternativa saludable.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

2.1.1. Internacional

Hidalgo (2023), en su trabajo de investigación titulada “Evaluación del kéfir de agua con tres sustratos edulcorantes y tres saborizantes naturales”, tuvo como propósito elaborar kéfir de agua con el uso de tres tipos de edulcorantes (azúcar blanca, morena y panela) y tres tipos de saborizantes naturales (limón, té negro y naranja) y analizó las características fisicoquímicas, microbiológicas, sensoriales, y el análisis económico por cada tratamiento. Dando como resultado que en los parámetros fisicoquímicos se estableció; 0,95% de Alcohol etílico, 3,87 de pH, índice de refracción 5,67, Azúcares reductores 6,73 y 0,40% de ácido láctico, en el análisis microbiológico no se presentaron carga de Coliformes totales como *Escherichia coli*, Coliformes fecales que muestra que el producto fue inocuo y se obtuvo una media de $4,6 \times 10^8$ UFC/ml de bacterias lácticas y $3,7 \times 10^8$ UFC/ml de levaduras. Concluyendo que T8 (Panela y té negro) fue el tratamiento más apreciado por los panelistas. La mejor relación beneficio/ costo fue del T9 (panela y naranja) que ofertó una mayor rentabilidad con \$1,98. recomendando así la producción de bebidas de kéfir de agua combinando la panela y la naranja debido a que presenta la mayor rentabilidad además de aumentar la diversidad de microorganismos en la flora bacteriana evitando enfermedades.

Yildiz et al. (2024) en su trabajo de investigación “Evaluación de la calidad funcional del kéfir de agua con Biomasa de *Haematococcus pluvialis* y pigmento colorante astaxantina” mencionan que su investigación fue la primera en investigar los efectos de la biomasa de microalgas de *Haematococcus pluvialis* y pigmento colorante astaxantina para mejorar las características funcionales del kéfir de agua. El kéfir fue evaluado para determinar el contenido de bacterias fisicoquímicas, bioquímicas y de ácido láctico (LAB) después de la fermentación utilizando biomasa (0,25%; de biomasa (W1) y astaxantina (W4) teniendo como resultado que el kéfir de agua incrementó el contenido de C16:0 casi tres veces y el contenido de proteína aumentó en un 58% en la muestra W2. La secuenciación de nanoporos proporcionó información detallada sobre el contenido de BAL y reveló que en el kéfir que contiene un 0,50 % de biomasa que reemplaza al azúcar (W3), *Liquorilactobacillus nagelii* proliferó del 8,05% al 46,57% y *Lactobacillus hordei* aumentó un 15%. veces, mientras que la adición de 0,25% de biomasa (W2) incrementó la abundancia de *Lactococcus lactis* 13 veces. *H. pluvialis*. concluyendo así que la

biomasa es una fuente prebiótica alternativa incrementando el contenido de BAL del kéfir de agua.

Moreno (2022), en el trabajo de investigación “Evaluación de diferentes niveles de pulpa de cauje (*Pouteria caimito*) en una bebida funcional con kéfir” Se evaluó diferentes niveles de pulpa de cauje (*Pouteria caimito*) en una bebida funcional con kéfir donde se utilizó pulpa de cauje 10,20 y 30%, panela 10%, kéfir 16,5% y agua. La fruta se caracterizó como la humedad, azúcares totales, proteína y fibra. Se midió el pH de la bebida, la acidez y los sólidos totales. En el análisis organoléptico se evaluó con 30 panelistas no entrenados con una escala de evaluación de 5 puntos. La humedad resultante de la pulpa de cauje fue de 81,1%, azúcares totales de 10,58%, proteína de 1,03% y fibra de 1,13%. El crecimiento de BAL y levaduras fue superior a 1×10^8 UFC/ml, lo que esta bebida formulada se clasifica como alimento probiótico y no hubo presencia de coliformes totales en todos los tratamientos desarrollados.

Caiza (2019) en su trabajo de investigación “Elaboración de una bebida fermentada a partir de lactosuero y leche de chocho (*lupinus mutabilis sweet*) utilizando al kéfir de agua como fermento” menciona que utilizó como sustrato lactosuero dulce y leche de chocho y granos de kéfir como fermento evaluando así características fisicoquímicas como pH, acidez y °Brix en un tiempo de 3 días. Se realizó un análisis sensorial con 30 panelistas mediante cataciones con parámetros de color, aroma, sabor, textura y aceptabilidad. Se concluyó que el mejor tratamiento fue el que contenía 50% de lactosuero dulce y 50% de leche de chocho con características fisicoquímicas de humedad 88,64%; grado alcohólico 1,68; proteína 2,20%; grasa 1,35%; fibra 0,02%, carbohidratos totales 7,30% además los recuentos microbiológicos como bacterias ácido lácticas con valores de $1,0 \times 10^2$ UFC/ml y levaduras $1,0 \times 10^2$ además libre de microorganismos perjudiciales.

Guamán (2022) en su trabajo de investigación titulado “Elaboración de kéfir de agua proteinizado con amaranto (*Amaranthus caudatus* L.) y saborizado con melocotón (*Pronus persica*)” tuvo como objetivo producir y probar diferentes niveles de harina de amaranto con el objetivo de aportar proteína y sabor al kéfir de agua teniendo en cuenta antecedentes con ausencia de estas, para ello, se desarrolló una fermentación sumergida con gránulos de kéfir. Como sustrato se utilizó panela disuelta en agua tratada, con niveles de 2,4 y 6% de harina de amaranto y 10% de melocotón como cantidad constante fermentadas a 72 horas. Según los resultados fisicoquímicos indicaron que la adición de harina de amaranto genera diferencias significativas en todos

los tratamientos mientras que para los resultados microbiológicos como bacterias ácido lácticas y levaduras resultaron ser mayores a 1×10^6 UFC/ml por lo que cumple con requisitos para ser una bebida probiótica. En cuanto al análisis sensorial tuvo mayor preferencia el T1. concluyendo así que la adición de harina de amaranto le da aporte proteico y la harina de melocotón incrementa el sabor recomendando su producción y consumo.

Miranda (2017) en su trabajo de investigación “Kéfir de agua fermentado a partir de azúcar marrón orgánico o convencional con adición de Jabuticaba (*Plinia cauliflora*)” donde tuvo como objetivo evaluar el efecto del azúcar sobre la fermentación con y sin Jabuticaba, controlando parámetros fisicoquímicos como perfil de carbohidratos, ácidos orgánicos y composición mineral. El tiempo de fermentación fue de 56 horas con monitoreo de cada 8 horas. El producto final obtenido tuvo características ácidas, con disminución de pH a diferencia de la inicial de aproximadamente con 30% para los sustratos sin Jabuticaba y un 12% las que contenían Jabuticaba, en caso del azúcar se observó también una reducción de aproximadamente 30% durante todo el proceso. En cuanto al contenido de sacarosa se produjo una reducción de casi el 93% a diferencia de la formulación con azúcar orgánica, los niveles de glucosa y fructosa aumentaron. En caso de los minerales como: P,K,Cr,Ca,Mg,Na y Cr resultó un incremento especialmente entre los 3 primeros por influencia del azúcar convencional, mientras que; las que contenían azúcar orgánica los de Cu,Zn,Mn,S,Fe,B y Ni se redujo. En cuanto a la característica del color evidenciaron una tendencia creciente durante los tiempos evaluados, pero especialmente las primeras 8 horas de fermentación el aumento fue más sobresaliente.

2.1.2.Nacional

Rodas (2019), en su trabajo de investigación “Efecto del porcentaje de gránulos de kéfir (5, 10 y 15 %) y temperatura de incubación (20, 25 y 30 °C) en las características fisicoquímicas, microbiológicas y organolépticas de una bebida funcional” tuvo como objetivo evaluar los siguientes parámetros: porcentaje de alcohol, pH, composición proximal, recuento de coliformes totales, hongos, levaduras y evaluación organoléptica. Iniciando con las características fisicoquímicas, en el porcentaje de alcohol de los tratamientos presentaron el mismo resultado, es decir, no presentaron diferencia estadísticamente significativa, se observó que el pH del T1 obtuvo el mayor contenido de pH 6,03 y el T9 obtiene el menor contenido de pH 4,15, además se observó que a mayor porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación el valor del pH

desciende. En cuanto a las características microbiológicas se observó la ausencia de coliformes totales y hongos, este es un indicador de que la bebida funcional se elaboró en condiciones higiénicas adecuadas. Con respecto al recuento de levaduras los resultados varían desde 6959,52 UFC/ml a 14768,82 UFC/ml, además se observa que a mayor porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación aumenta las UFC. En las características organolépticas, las apreciaciones oscilan desde me disgusta a me gusta.

Malma (2020), en su investigación titulada “proceso homofermentativo de kéfir con bacterias probióticas típicas para prolongar su tiempo de vida útil” menciona que el presente trabajo propone el proceso homofermentativo para obtener kéfir utilizando bacterias probióticas típicas que prolonguen el tiempo de vida útil, para lo cual se definió los parámetros de control en el proceso: tiempo de activación, tiempo de incubación y concentración de cultivo madre para producir kéfir, así mismo, se caracterizó el producto final mediante propiedades fisicoquímicas (viscosidad, % de acidez y pH), microbiológicas (cantidad de células viables UFC/ml) y presencia de bacterias patógenas. Se realizó un estudio de vida útil mediante el método de estabilidad y el método de almacenamiento acelerado (método cinético), El primer método consistió en medir la cantidad de células viables, variación de viscosidad, pH y % acidez durante 36 días, así mismo, se realizó en paralelo un análisis sensorial sin escala hedónica, dando como resultados 30 días de preferente consumo.

Taype (2023) En su trabajo de investigación “Formulación de una bebida simbiótica funcional con granos de kéfir y jarabe de yacón” menciona que se recolectó dos muestras de granos de kéfir proveniente de dos mercados diferentes de la ciudad de Cusco. Los granos de kéfir recolectados se mezclaron y se cultivaron en leche para tener una sola fuente de inóculo homogéneo. Seguidamente, fue elaborado el jarabe de yacón hasta alcanzar una concentración de 66°Brix. Posteriormente, se efectuaron los ensayos de fermentación en el medio de cultivo patrón, con tiempos de fermentación 12, 18 y 24h y concentraciones de jarabe de yacón 10, 12 y 15%, para determinar simultáneamente el tiempo de fermentación y concentración de jarabe de yacón de una bebida fermentada tipo kéfir. Resultó ser más apropiado un tiempo de fermentación de 12 horas y concentraciones de jarabe de yacón 10%, 12% y 15%. Se determinó el rendimiento de biomasa húmeda producido al término de cada tiempo de fermentación. Siendo el mayor rendimiento de biomasa húmeda a una concentración de jarabe de yacón 15%, pues a esta concentración y al cabo de 24 horas de fermentación, el rendimiento de biomasa fue el más alto. Seguidamente, fue identificado el tratamiento

de fermentación más adecuado, tomando en consideración pH, rendimiento de biomasa y formación de fases o que presentaran características similares a la bebida láctea fermentada tipo kéfir. Esta a su vez fue sometida a una prueba de aceptabilidad de dulzor, utilizándose la escala hedónica de categoría 9. Donde la mayor aceptabilidad del dulzor correspondió para una concentración de jarabe de yacón 15% y 12 horas de fermentación. Finalmente, a la muestra de mayor aceptabilidad se determinó las características fisicoquímicas y microbiológicas, comparándose los resultados con las especificaciones de la norma internacional Codex STAN 243.2003, norma del Codex para leches fermentadas. Los resultados para grasa (0,58%), proteína total (2,4%), acidez (2,5%), N° de levaduras ($4,9 \times 10^4$ UFC/g) y N° de bacterias ácido lácticas (10×10^7 UFC/g) estuvieron dentro de lo establecido en la norma ($<10\%$, $\geq 2,7\%$, $\geq 0,6\%$, $\geq 10^4$ UFC/g y $\geq 10^7$ UFC/g, respectivamente).

2.1.3. Local

Alagón (2024) en su investigación tuvo como objetivo medir la “Capacidad probiótica de los microorganismos en la chicha de molle elaborada artesanalmente en la provincia de huamanga”. Para lograr esto, los microorganismos se aislaron en agar Lactobacilli para bacterias lácticas y agar Sabouraud para levaduras llevando a incubar durante 24 horas en temperaturas de 37 y 28°C obteniendo así cepas completamente puras. Determinándose que para bacterias y levaduras lácticas incluyen *Lactobacillus plantarum*, *Saccharomyces chodati*, etc. En la evaluación de la capacidad probiótica a diferente pH, extractos gástricos, sales biliares y crecimiento a temperaturas de 28, 37 y 50°C resultando que el 17% de *Leuconostoc mesenteroides*, 13 % de *Saccharomyces heterogenicus*, 10 % de *Lactobacillus plantarum*, 8 % de *Saccharomyces kluyveri* y 7 % de *Leuconostoc lactis* presentan capacidad probiótica y las demás cepas solo son probióticas como *Saccharomyces odessa*, *Saccharomyces chodati* y *Galactomyces candidum* que presentan tolerancia en algunas condiciones gastrointestinales. La chicha de molle contiene microorganismos que tienen la capacidad de ser probióticos, por lo que su consumo beneficia al microbiota intestinal. Además, es importante aumentar su producción.

2.2. BASES TEÓRICAS

2.2.1. Kéfir de agua

El kéfir de agua es una bebida fermentada producida artesanalmente, con un sabor levemente ácido con característica carbonatada con alto contenido de ácido láctico y con bajo contenido de alcohol (menos del 1%), típicamente producida por fermentación

de una solución azucarada (sacarosa) que se le puede acompañar con frutas secas o frescas y los granos de kéfir. Guzel-Seydim et al. (2021), como citó Strada et al. (2010) manifiesta:

El kéfir es considerado un probiótico, los tíbicos son gránulos que son semejantes a una coliflor con diámetro de 0,3-3,5 cm también está compuesto por una mezcla de microorganismos, polisacáridos, moléculas aminadas, vitaminas, ácidos, etanol y sustancias volátiles, se nutre a través de líquidos azucarados para producir ácido láctico, dióxido de carbono que hace que la bebida tenga característica carbonatada y produzca etanol. (p.1022)

Los microorganismos presentes en el kéfir de agua no son infecciosos y, junto con los ácidos orgánicos que producen (y que se encuentran en el producto fermentado), pueden inhibir el crecimiento de bacterias como *Salmonella* sp., *Shigella* sp., *Salmonella typhimurium*, *E. coli* y *Staphylococcus aureus*, así como hongos filamentosos como *Aspergillus flavus*. Moretti et al. (2022)

El kéfir tiene la capacidad de mejorar la salud gracias a la presencia de péptidos bioactivos, según varios estudios in vitro e in vivo en las investigaciones han demostrado que esta bebida actúa como antihipertensiva, antimicrobiana, inmunomodulador, acarreadora de minerales y antioxidantes. Guzel-Seydim et al. (2021)

Tabla 1

Composición fisicoquímica y mineral del kéfir de agua

Compuesto	Composición
Acidez titulable (g/ml)	0,777
pH	3,44 ± 0,05
Carbohidratos (mg/ml)	1,806 ± 0,05
Proteínas (%)	0,017
Materia seca (% p/v)	0,51 ± 0,04
Etanol (%)	1,19
Sólidos solubles	3,4
Minerales	
Sodio (mg/l)	77,6
Potasio (mg/l)	165,4
Magnesio (mg/l)	21,1

Nota: Tomado de "Microbiological and chemical characterization of water kefir: An innovative source of potential probiotics for bee nutrition" (p.3) Rodríguez et al. (2022).

Cabe mencionar que el kéfir de agua no está integrado en la legislación alimentaria de mayoría de los países y se ofrece normalmente como una “bebida tradicional”, debido a la gran popularidad que está ganando algunos países como Australia han incluido en la legislación alimentaria catalogándola como refresco fermentado, la FDA considera al kéfir de agua como uno de los productos que puede realizar un reemplazo vegetal a la leche o derivados. Cufaoglu y Erdinc (2023)

2.2.2. Composición microbiológica del kéfir de agua

La microbiota del kéfir de agua está conformado por tres grupos principales: BAL (Bacterias lácticas), BAA (Bacterias ácido acéticas) y levaduras. Las bacterias como BAL y BAA regularmente presentan concentraciones de 10^7 UFC/ml en la bebida fermentada y levaduras que están en una concentración menor de 10^5 UFC/ml. Patel et al. (2022) además Teixeira et al. (2011) en su investigación a cerca de una ecología microbiana y la composición química del kéfir brasileño menciona que, los microorganismos investigados e identificados fueron un total de 359 aislamientos microbianos con: bacterias del ácido láctico (60,5%) siendo el principal grupo aislado e identificado, levaduras (30,6%) y bacterias del ácido acético (8,9%). A continuación, se presentan bacterias y levaduras encontradas en los granos de kéfir.

Tabla 2

Bacterias y levaduras aisladas de los granos de kéfir de agua

BACTERIAS
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>Paracasei</i>
<i>Acetobacter lovaniensis</i>
<i>Lactobacillus parabuchneri</i>
<i>Lactobacillus kefir</i>
<i>Lactococcus lactis</i>
<i>Lactobacillus casei</i>
<i>Lactobacillus paracasei</i>
<i>Leuconostoc buchneri</i>
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>Tolerans</i>
<i>Lactobacillus citreum</i>
LEVADURAS
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Kluyveromyces lactis</i>
<i>Lachancea meyersii</i>
<i>Kazachstania aerobia</i>

Nota: Tomado de “Brazilian kefir: structure, microbial communities and chemical composition” (p.697) Teixeira et al. (2011).

Tabla 3

Cepas identificadas en los granos de kéfir

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. Pseudoplatantum</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 homrachei</i>
<i>Gluconobacter frateurii</i>	<i>Chysemonas luteola</i>
BIFIDOBACTERIA	<i>B. psychraerophilum</i>
LEVADURAS	
<i>Hanseniaspora viniae</i>	<i>Hanseniaspora uvarum</i>
<i>Saccharomyces florentinus</i>	<i>Saccharomyces pretoriensis</i>
<i>Zygosaccharomyces florentinus</i>	<i>Candida valida</i>
<i>Saccharomyces bayanus</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Kloeckera apiculata</i>	<i>Candida lambica</i>
<i>Candida colliculosa</i>	<i>Toruspora delbrueckii</i>
<i>Kluyveromyces lactis</i>	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
<i>Candida famata</i>	<i>Candida kefyr</i>
<i>Candida inconspicua</i>	<i>Candida magnoliae</i>

Nota: La tabla muestra las bacterias y levaduras aisladas e identificadas en los granos de kéfir de agua. Tomado de “*Microbial profile of a kefir sample preparations: grains in natura and lyophilized and fermented suspension*” (Strada et al., 2010 citado por Moreno, 2022)

Guzel-Seydim et al. (2021) nos dice que “la variedad de especies microbianas de kéfir de agua se compone principalmente de bacterias ácido lácticas, levaduras y bacterias de ácido acético, como lo demuestran las técnicas de cultivo dependiente e independiente”. Sin embargo, fue evidente que varios kéfirs de agua exhiben diversidades de especies. Por lo tanto, el estudio de la microbiología de la fermentación del kéfir de agua requiere un enfoque sistemático. Laureys y Vuys (2014)

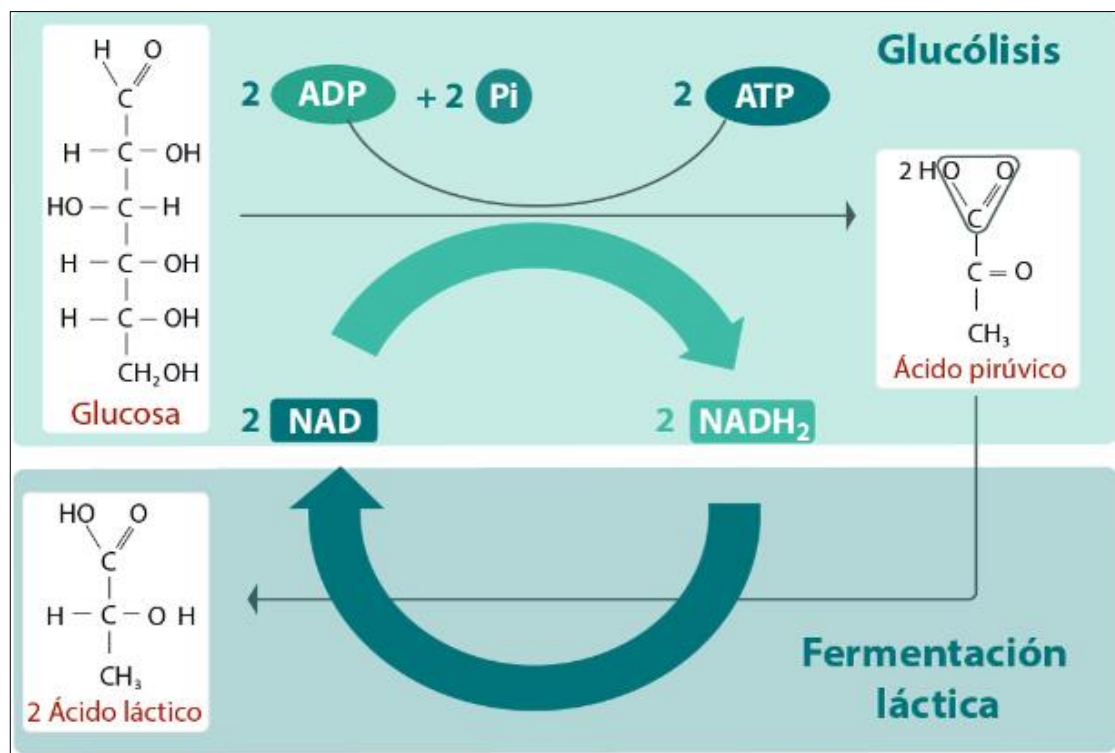
2.2.3. Fermentación del kéfir

El kéfir de agua antes de la fermentación se encuentra en un medio retador para los microorganismos ya que se encuentra en niveles altos de carbono de la sacarosa, en cambio los niveles de nitrógeno utilizable son bajos. El nitrógeno es de vital importancia para el crecimiento de los microorganismos y se halla en las frutas. Por otro lado, es necesario que las levaduras liberen al medio aminoácidos y péptidos. Stadie et al.(2013)

es citado por Rodriguez, 2023). La producción de glucosa y fructosa provienen de la hidrólisis de la levadura en sacarosa, estos azúcares son aprovechados para realizar la fermentación alcohólica cediendo al etanol y dióxido de carbono lo que le da sensación de gaseosa típico del kéfir. (Lynch et al., 2021). La sacarosa hidrolizada da las condiciones a las bacterias por medio de la disponibilidad de fructosa y glucosa. Las BAL (bacterias lácticas) asimismo tienen la capacidad de hidrolizar la sacarosa obteniéndose fructosa y glucosa, que mediante la fermentación láctica genera ácido láctico reduciendo el pH de la bebida así ayudando a inhibir el desarrollo de microorganismos perjudiciales. (Lynch et al., 2021).

Figura 1

Proceso metabólico de la glucólisis y generación de ácido láctico del kéfir de agua



Nota: Tomado de "Extracción de quitina utilizando ácido láctico" (p.9) Marinela et al. (2017)

Durante la glucólisis, una molécula de glucosa se descompone en dos moléculas de ácido pirúvico, produciendo ATP y NADH₂. En ausencia de oxígeno, el ácido pirúvico se convierte en ácido láctico, permitiendo la regeneración de NAD⁺ para que el ciclo continúe. Este proceso es característico de bacterias ácido lácticas. (Marinela et al., 2017).

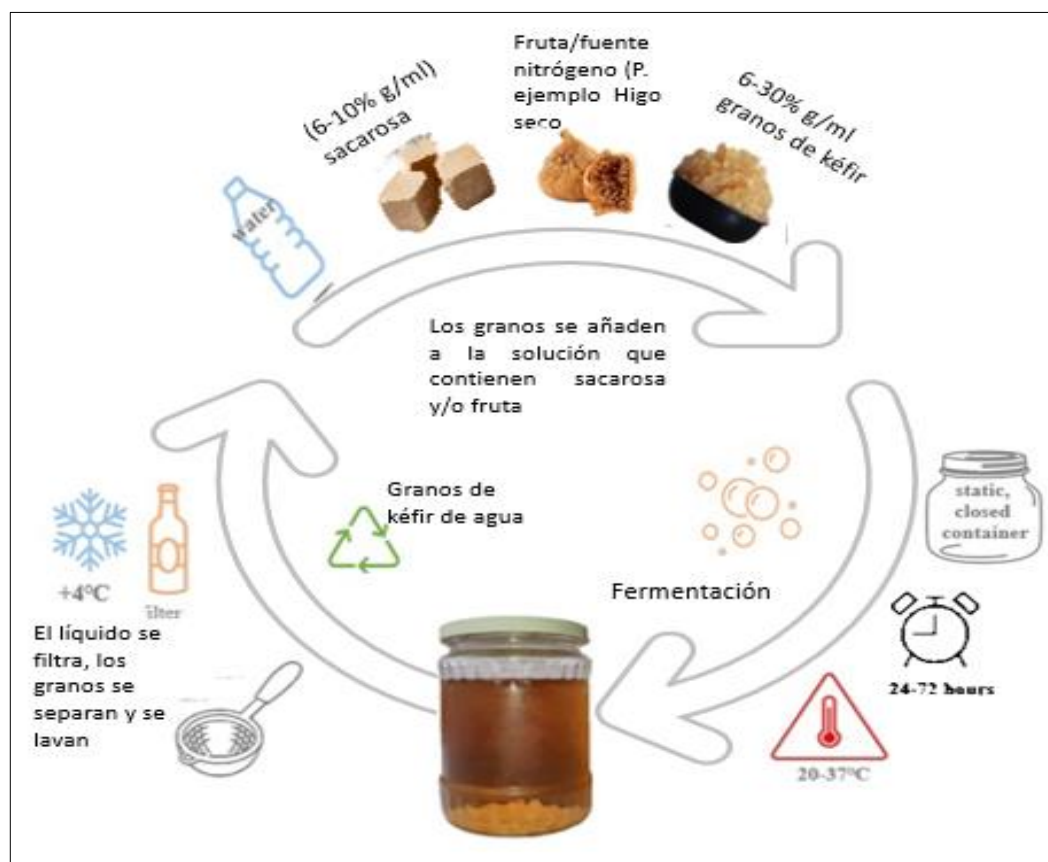
2.2.4. Elaboración tradicional del kéfir de agua

Para el inicio de su elaboración es la inoculación de los nódulos de kéfir inmerso en una solución de agua, azúcar y frutas, la solución de azúcar (sacarosa) se añade en una concentración de entre 6% y 30% (p/v) y los granos de kéfir va entre 6% al 20% (p/v). (Pendón et al., 2022). Para Azizi et al. (2021) nos dice que “el aporte de las frutas frescas o secas son necesarias para la producción de aminoácidos, vitaminas y minerales y el crecimiento de los microorganismos del kéfir.

Se debe tener en cuenta que una vez preparada la mezcla se procede a realizar la fermentación en un envase cerrado durante un tiempo que va de 24 a 72 horas, en un ambiente de 20°C y 37°C preferiblemente en un espacio oscuro, sin agitar. (Lynch et al., 2021). Finalizado la incubación se retiran los granos de kéfir de la bebida fermentada para luego almacenarlos en un ambiente de 4°C para uso de posteriores fermentaciones.

Figura 2

Procedimientos para la producción de kéfir de agua



Nota: La figura muestra el proceso de producción del kéfir de agua. Tomado de “Una fuente alternativa de probióticos: Kéfir de agua” (p.23) Cufaoglu y Erdinc (2023).

2.2.5. Avances en la producción del kéfir de agua

Es importante tener en cuenta que el kéfir de agua se consume con frecuencia como una bebida artesanal o fabricada en casa, por lo que ni el proceso de fermentación ni las cepas probióticas utilizadas en su fabricación están reguladas. Por lo tanto, es necesario que se incluya en las leyes alimentarias de los países donde se consume. Moretti et al. (2022)

Es importante recordar las regulaciones relacionadas con el kéfir de agua, además de los posibles efectos negativos sobre la salud y las normas internacionales sobre alimentos y bebidas fermentadas, como el Codex Alimentarius. Esatbeyoglu et al. (2023)

En el Perú el consumo de esta bebida no es muy común a diferencia de otras bebidas que están en los supermercados, no obstante, en nuestro país se produce de forma artesanal comercializándolo solo por pedidos, en países como Estados Unidos, Bélgica, Italia y Argentina el kéfir de agua se fabrica a escala industrial y se comercializa en los mercados. Moretti et al. (2022)

2.2.6. Sustratos para la fermentación del kéfir de agua

Otras alternativas de sustratos para fermentación, aparte de frutas y verduras son como zanahorias, jengibre, hinojo y cebollas. se observó que los granos de kéfir poseen muchos microorganismos diferentes que pueden adaptarse a diferentes sustratos. Por lo tanto, la distribución de cepas durante la fermentación puede diferenciarse de las fuentes de carbono y energía utilizable. (Fiorda et al., 2017)

Para obtener las características deseadas del producto, la temperatura y otras condiciones de fermentación, como el contenido microbiano del grano de kéfir, el tipo de sustrato y la duración de la fermentación, deben controlarse estrictamente, es posible la utilización de melazas y jugos de verduras como base para las bebidas industriales de kéfir de agua.(Bozkir et al., 2024)

2.2.7. Sustrato

Castro (2017) nos dice que “para el caso de fermentaciones, el sustrato es el alimento que va utilizar la levadura para incrementarse y generar alcohol, CO₂ y ácido láctico”.

2.2.8. Sacarosa

El azúcar se le asocia a la sacarosa que se extrae directamente de la caña de azúcar que normalmente es un producto natural, sólido, cristalizado producido mediante procedimientos industriales. (Romero, 2010)

Tabla 4*Composición química de la sacarosa por cada 100g*

Composición química del azúcar por cada 100 g		
Calorías	380	Kcal
Lípidos	0	
Ácidos grasos	0	
Colesterol	0	
Sodio	28	mg
Potasio	133	mg
Glúcidos	98	g
Fibra alimentaria	0	
Proteínas	0,1	mg
Calcio	83	mg
Hierro	0,7	mg
Magnesio	9	mg

Nota: Tomado de “*Ingredientes básicos de la gastronomía: El azúcar*” (p.43) Berzero (2015)

2.2.9. Mashua negra

2.2.9.1. Origen y distribución geográfica

Según los estudios realizados el origen de la mashua data entre los años (650-1350 ac) que tiene como evidencia en la cueva de Huachumachay, ubicado en el valle de jauja provincia de Huancayo. Asimismo, también en la cultura nazca se encontraron figuras de mashua (1000 a.c) así como también papa, oca y olluco. (Arteaga et al., 2022). Los tubérculos de mashua se siembran en áreas para autoconsumo y condiciones la cual la altitud varia de 2400 y 4300 msnm en donde las temperaturas varían de 8 a 11 °C , principalmente entre los países andinos Perú, Ecuador y Bolivia (Arteaga et al., 2022).

2.2.9.2. Clasificación taxonómica de la mashua negra

Tabla 5*Clasificación taxonómica de la mashua negra*

Clasificación	Descripción
Reino	Plantae
División	Angiospermae
clase	Equisetopsida
Subclase	Magnoliidae
Orden	Brasicales
Familia	Tropaeolaceae
Género	Tropaeolum
Especie	Tropaeolum tuberosum Ruiz & Pavón

Nota: Tomado de “*Un sistema integrado de clasificación de plantas con flores*” (Cronquist, 1981 citado por Camasita y Ocros, 2023).

2.2.9.3. Composición nutricional y fisicoquímica de la mashua negra

La mashua posee un alto valor nutritivo superando a algunos cereales y tubérculos por lo que es recomendado formar parte de la alimentación ya que contiene un equilibrado contenido de aminoácidos, compuestos bioactivos, aportes benéficos medicinales, capacidad antioxidante, compuestos fenólicos entre otras cualidades para la alimentación. Sin embargo, el consumo de este tubérculo es mínimo debido a su sabor amargo y no son aprovechados por el sector agroindustrial. (Malpartida et al., 2022)

Tabla 6

Composición química y nutricional de la mashua negra

Componente	Contenido (%)
Cenizas	0,607±0,008
Proteína	1,599±0,006
Carbohidratos	10,996±0,085
Azúcares reductores	18,48±0,08
Calcio	-
Fosforo	-
Potasio	-

Nota: Tomado de “Características fisicoquímicas, composición nutricional y compuestos bioactivos en tres variedades de Mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón): Una revisión” (Malpartida et al., 2022)

Tabla 7

Composición fisicoquímica de la mashua negra

Componente	Contenido (%)
Humedad	85,730±0,069
Grasa	0,452 ±0,005
pH	6,29±0,01
Ceniza	0,607±0,008
Sólidos solubles	6,120 ±0,226
Acidez titulable	1,53±0,04

Nota: Tomado de “Características fisicoquímicas, composición nutricional y compuestos bioactivos en tres variedades de Mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón): Una revisión” (Malpartida et al., 2022)

Tabla 8

Composición química de harina de mashua en 100 g de muestra

Característica	Composición (g)
Proteína	1,6
Grasa	0,6
Carbohidrato	75,4
Ceniza	5,9
Fibra	1,8
Humedad	14,7

Nota: Tomado de “Determinación de la proporción óptima de harina de Mashua (*Tropaeolum tuberosum*) como sustrato parcial para la elaboración de pan integral – Huánuco” (p.66) Jorge y Ponce (2016).

2.2.9.4. Usos de la mashua negra

La mashua negra tiene múltiples usos no solo como alimento a nivel nutricional y medicina tradicional, según investigaciones también hay un posible uso como un colorante vegetal por el contenido de flavonoides, compuestos fenólicos, antocianinas y quinona que al contacto con un medio ácido se oxidan dando un color morado azulado. (Carriel et al., 2023).

2.2.10. Yacón (*Smallanthus sonchifolius*)

2.2.10.1. Origen y distribución geográfica

El yacón es procedente de los andes y a través de los años domesticado por el antiguo habitante peruano se ha distinguido por ser una planta herbácea con crecimiento de hasta 2 metros, son de tallo cilíndricos y raíces que acumulan azúcar con múltiples beneficios. (León et al., 2009 citado por S. López et al., 2021)

En nuestro país el yacón se desarrolla en el área alto andina en 17 de las 24 regiones del Perú tales como: Cajamarca, Amazonas, Lambayeque, La Libertad, San Martín, Ancash, Huánuco, Pasco, Lima, Cuzco, Puno, Arequipa, Apurímac, Ayacucho, Huancavelica, Junín. Las regiones principales de producción son: Cajamarca, Puno, Oxapampa, Huánuco y Junín. (Anchivilca y Navarro, 2022)

2.2.10.2. Clasificación taxonómica del yacón

Tabla 9

Clasificación taxonómica del yacón

Clasificación	Descripción
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Asterales
Familia	Asteraceae
Subfamilia	Asteroideae
Tribu	Millerieae
Género	Smallanthus
N.C	S. Sonchifolius (Poepp & Endl) H.Robinson
Sinonimia	Polymnia Sonchifolius Poepp & Endl

Nota. Tomado de “*Caracterización morfológica y molecular de materiales de yacón (Smallanthus sonchifolius Poep. & Endl) H. Robinson colectados en la ecorregión Eje Cafetero de Colombia*” Polanco y García (2013).

2.2.10.3. Composición fisicoquímica del yacón

Tabla 10

Composición química del yacón (%)

Base fresca		Base húmeda	
Características	Cantidad	Componente	Rangos de valor
Humedad %	81,8	Humedad %	8,2-8,5
Proteína %	2,69	Energético Kcal	363,9-393,7
Grasa %	0,24	Grasa %	0,17-0,24
Fibra bruta %	4,08	Proteína %	2,6-2,8
Carbohidratos %	89,95	Carbohidratos %	88,0-93,2
Cenizas %	3,04	Fibra bruta %	3,2-4,1
Sólidos solubles %	14,2	Cenizas %	2,5-3,2
Acidez (ácido cítrico) %	0,293	Sólidos solubles °Brix	14,1-16,5
pH	6,43	pH	6,3-6,7
Azúcares reductores (exp. Glucosa) %	5,5	Acidez (ácido cítrico)	0,29-0,36

Nota: Tomado de “*El yacón: Fundamentos para el aprovechamiento de un recurso promisorio*” (Seminario et al., 2003 citado por Rueda & Trinidad, 2020)

2.2.10.4. Composición nutricional del yacón

Tabla 11

Composición nutricional del yacón

Componente	Rango
Agua (g)	85-90
Azúcares simples (g)	6-12.
Oligofructosa (OF) (g)	1,5-4
Proteínas (g)	0,1-0,5
Potasio (mg)	185-295
Fructooligosacáridos (%)	3-19.
Calcio (mg)	6-13
Calorías (Kcal)	14-22

Nota: La tabla muestra la composición nutricional del yacón. Tomado de “Yacón: ficha técnica” (Manrique et al., 2004 citado por Rueda y Trinidad, 2020)

Para Álvarez et al. (2019) nos dice que “el yacón contiene Fructanos del tipo inulina, estos funcionan como sustratos y señaladores de moléculas regulando la respuesta inmune, homeostasis de glucosa y el metabolismo de lípidos reduciendo así los riesgos de hiperglucemia, obesidad y el cáncer colorrectal”.

2.2.10.5. Composición fisicoquímica de la harina de yacón

Tabla 12

Características fisicoquímicas de la harina de yacón

Parámetro	Contenido (%)
Humedad	5,20
Fibra total	0,90
Acidez total	1,17
Cenizas	4,26 ± 0,10

Nota: Tomado de “Determinación de las características nutricionales y fisicoquímicas de la harina de yacón (*Smallanthus Sonchifolius*) con fines de aceptabilidad” (p.36) García et al. (2022).

Gonzáles (2021) nos dice que “el *Lactobacillus sp* posee un elevado valor potencial probiótico y añadido el extracto de yacón fomenta el crecimiento del probiótico, los fructooligosacáridos que componen el yacón le otorgan un mejor efecto prebiótico”.

2.2.11. Espirulina

2.2.11.1. Origen y producción de la espirulina

Según Gómez (2020) el origen de la espirulina según el cronista español López de Gómara narra las costumbres aztecas que lo llamaban “deshecho de granito” que

consumían ciertos alimentos provenientes del suelo o de las lagunas extrayéndolos para luego hacerlas como tortas similares a ladrillos para luego venderlas y ser llevadas a otros pueblos más lejanos.

2.2.11.2. Clasificación taxonómica de la espirulina

Tabla 13

Clasificación taxonómica de la espirulina

Clasificación	Descripción
Especie	Basilos
Subdominio	Gracilicutes
Dominio	Cyanobacteria
Tipo	Cyanophyceae
Subclase	Oscillatoriophyceae
Familia	Phormidiaceae
Subfamilia	Phormidioideae
Género	Arthospira

Nota: Tomado de “Efecto de la espirulina en el manejo de las alteraciones metabólicas relacionadas a la obesidad: Revisión sistemática” Bohórquez (2017).

2.2.11.3. Composición química de la espirulina

Tabla 14

Composición química de la espirulina

Componente	Cantidad
Proteína (%)	60-75
Aminoácidos esenciales (%)	
Leucina	8,7
Arginina	6,5
Valina	5,6
Metionina	2,3
Aminoácidos no esenciales (%)	
Ácido glutámico	14,6
Ácido aspártico	9,8

Nota: Tomado de “Guía de nutrición de la familia” (Burgess y Glasauer, 2006 citado por Gonzáles, 2021)

Vitón y Macías (2016) la principal característica de la espirulina es que la pared celular de esta no incluye celulosa por estar compuesta de mucopolisacáridos blandos lo que

facilita la fácil digestión y la fácil asimilación del consumidor. A parte de los compuestos ya mencionados la espirulina contiene ácido fólico, biotina, ácido pantoténico, inositol y beta caroteno.

2.2.12. Importancia de la espirulina

La espirulina en la salud según estudios realizados evidenció ser de gran interés, una de ellas en la generación de actividad antimicrobiana contra las bacterias patógenas por lo que es de gran importancia su producción y consumo. (Moyano y Ochoa, 2023)

Para Tarazona (2018) “la técnica más empleada para el consumo de la espirulina es la deshidratación la cual se suprime la cantidad de agua obteniéndose un polvo azul verdoso utilizado para ser añadida en la alimentación convirtiéndose así en un alimento funcional”.

2.2.13. Alimentos funcionales

Es considerado a todo alimento que además de aportar un valor nutritivo, contiene componentes bioactivos que de alguna manera beneficia la salud reduciendo así adquirir enfermedades, estos alimentos pueden ser de manera natural o también añadidos. (Beltrán, 2016)

El alimento funcional es destacado también por su composición química y nutricional siendo independiente del grado de procesamiento. Tomando en cuenta las propiedades que caracterizan a los alimentos funcionales, gran parte de los alimentos naturales son funcionales siendo estos una gran fuente de sustancias esenciales para el organismo. (Masís, 2001)

2.2.14. Fermentación

El primero en reconocer el funcionamiento de la fermentación fue Pasteur denominándolo “la consecuencia de la vida sin aire”, a nuestros días esta afirmación sigue vigente debido a que todas las fermentaciones se dan bajo condiciones anaerobias precisas. Sin embargo, otros son anaerobios facultativos que son capaces de crecer en presencia o ausencia de oxígeno, las bacterias ácido lácticas integran una excepción a esta regla; el tipo de metabolismo energético no se modifica en aerobiosis como consecuencia que la fermentación continúe incluso en presencia de oxígeno. (Carbonero, 1975 es citado por Martínez, 2014)

Morales (2014) Menciona que “la fermentación es un proceso que realiza catabolismo con intervención de elementos vivos (Bacterias, levaduras o células animales) o no vivos

(enzimas) con un sin número de reacciones, un compuesto orgánico se oxida en partes por ausencia de oxígeno para obtener energía química”.

2.2.15. Fermentación alcohólica

El proceso se da a lugar en un medio anaeróbico por medio de levaduras y algunas bacterias, dónde la transformación se da a partir de un sustrato celular, mono y di sacáridos para convertirlos en alcohol etílico y dióxido de carbono, con la generación de equivalentes de reducción de los compuestos NAD/NAD⁺ y NADHP/NADP⁺ con enlaces de alta energía de fosfato ATP. (Nielsen, 2009). La energía se sintetiza como ATP partiendo de un proceso de glucólisis continuando el metabolismo del piruvato dando así una fermentación complementando la glucólisis haciendo posible generar energía sin presencia de oxígeno. (Nielsen, 2009)

2.2.16. Fermentación láctica

Jayabalan et al. (2007) Mencionan que el “ácido láctico proviene de la reducción del ácido pirúvico por medio del NADH⁺, H⁺ es de esta manera que se forma el NAD⁺ se recupera y se degradan nuevas moléculas de glucosa”.

Morales (2014) Por medio de la fermentación láctica provienen un conjunto de ácidos que son los que disminuyen el pH de la disolución, los ácidos presentes son: ácido láctico, tartárico, málico y en menos cantidad cítrico (se produce al tercer día de fermentación).

Los gránulos de kéfir contienen un sinnúmero de bacterias ácido lácticas BAL que se encargan de la transformación de glucosa del medio en ácido láctico, pero existen 2 vías metabólicas, la glucólisis, en la que se involucran bacterias Homofermentativas (*L. delbrueckii* y *L. acidophilus*) cultivados a 45°C y bacterias como (*L. casei* y *L. plantarum*) cultivados a 15°C, reaccionando así en ausencia de oxígeno transformando la glucosa en ácido láctico, en cambio así la vía monofosfato de hexosa donde actúan bacterias Heterofermentativas (*L. fermentum*, *L. brevis* y *L. keferi*) que reaccionan en presencia de oxígeno que a partir de glucosa se obtienen otros productos a parte de ácido láctico tales como: Ácido acético, etanol, CO₂, etc) (Bush, 2022).

2.2.16. Fermentación acética

(Shiang, 2005) menciona que “Las bacterias del ácido acético pertenecen al género *Acetobacter* y es caracterizado por su capacidad de convertir el alcohol etílico (C₂H₅OH) en ácido acético (CH₃CO₂H) por medio de la oxidación”.

La producción de las bacterias del ácido acético (AAB), género acetobacter, son un grupo de bacterias Gram-negativas que se da con la oxidación de azúcares produciendo ácido acético mediante la fermentación que estos dan lugar en medios azucarados, alcohólicos y ácidos como frutas, flores y en particular bebidas ya fermentadas. (Graham, 2022).

2.2.17. Evaluación sensorial

Fetta (2017) nos dice que “es considerada como una caracterización y análisis de aceptación o rechazo de un alimento de parte del evaluador que depende de la sensación que experimenta después de consumir y degustar, se debe tomar en consideración que las percepciones dependen de la persona, entorno y tiempo”.

Las pruebas sensoriales tienen como función principal realizar prueba certificada y eficaz que proporcionen información para que se puedan tomar decisiones acertadas. Las reacciones que se dan luego del consumo de alimentos están producidas por el grado de satisfacción del consumidor con relación a estímulos de los 5 sentidos: sabor, tacto, vista, olor y percepción. (Paricanaza, 2022)

2.2.18. Escala hedónica

La escala hedónica es un procedimiento que permite evaluar estados psicológicos, con esta evaluación del alimento surge indirectamente como resultado de la medida de estimulación humana la posible aceptación del alimento. Se pide a los evaluadores que respondan o de su primera reacción dando su opinión el grado de aceptación, esto lo informa de acuerdo a una escala numérica proporcionada en la ficha de evaluación. La escala tiene 9 puntos. Pero a veces es extensa entonces se acorta a 7,5 o 3 puntos. (Espinosa, 2007)

2.3. MARCO CONCEPTUAL

- Kéfir de agua: Es una bebida elaborada con granos de kéfir llamados tíbicos, que son cultivo de bacterias con beneficios de pre y probióticos.
- Granos de kéfir de agua: Se utilizan para fermentar líquidos azucarados para producir kéfir de agua, estos granos fermentan líquidos no lácteos.
- Sustratos: Es la fuente de nutrientes o compuestos que los microorganismos (como bacterias y levaduras) utilizan para llevar a cabo el proceso de fermentación.

- Características fisicoquímicas: Es el comportamiento del material frente a comportamientos externos, como el calentamiento o acciones de productos químicos.
- Propiedades funcionales: Influyen su actividad en diversos sistemas principalmente el gastrointestinal, cardiovascular e inmunológico trayendo múltiples beneficios.
- Bacterias ácido lácticas: Se componen por un grupo heterogéneo de microorganismo que producen ácido láctico que provienen de la fermentación de carbohidratos.
- Ácido láctico: Es un subproducto de la fermentación llevado a cabo por bacterias ácido lácticas (BAL), que están presentes en los gránulos de kéfir.
- Sólidos solubles °Brix: Representan la concentración de azúcares disueltos y otros compuestos solubles en una solución que indican la cantidad de azúcares y otros compuestos que están presentes antes y después de la fermentación.
- pH: Es un indicador de la concentración de iones de hidrógeno en la solución, en una escala de 0 a 14, donde los valores bajos (menores a 7) indican acidez y los valores altos indican alcalinidad.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN Y DURACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

La presente investigación se desarrolló en los ambientes de la Facultad de Ingeniería Química y Metalurgia y la Escuela de Biología. En el Laboratorio de Procesos Agroindustriales se realizaron los tratamientos y las evaluaciones fisicoquímicas del kéfir de agua, mientras que en el Laboratorio de Biotecnología se desarrolló el análisis microbiológico para determinar la carga microbiana de la bebida fermentada del kéfir de agua con sustratos. Todo este proceso en la investigación tuvo una duración de aproximadamente 6 meses.

3.2. EQUIPOS, MATERIALES E INSUMOS

3.2.1. Equipos

- Balanza analítica HENKEL BQ2001 (e=0,01g)
- pH metro OFFESION EZ-99908
- Refractómetro Precisso (Rango 0-32 Brix)
- Cocina eléctrica 220V
- Autoclave Market Forge 0556A (110°C-121°C)
- Incubadora de laboratorio J5GI-100T (5-70°C)
- Deshidratador Blanik BDA020 (Rango 35-70°C)
- Balanza para medición de humedad PCE-MB 50
- Mechero bunsen
- Contador de colonia
- Refrigeradora
- Cocina industrial

3.2.2. Materiales

- Frascos de vidrio con tapa de 1700 ml
- Matraz de Erlenmeyer de 250 ml
- Vasos precipitados de 50 ml
- Pipetas graduadas de 1,5 y 10 ml

- Bureta de 50 ml
- Soporte universal con pinzas
- Probeta graduada de 250 ml
- Ollas industriales
- Jarra plástica de 1L
- Tubos de ensayo de 12 ml
- Gradillas
- Placas Petri de 100mm
- Varilla de vidrio
- Pinzas de laboratorio
- Espátula de laboratorio

3.2.3. Insumos y reactivos

- Sustratos (Harina de mashua negra, harina de yacón y espirulina)
- Sacarosa (Azúcar rubia)
- Agua destilada
- Alcohol de 90° GL
- Granos de kéfir
- Fenolftaleína 2%
- Solución de NaOH (0,1N)
- Solución Buffer (pH=7.0)
- Caldo Lactobacilli
- Agar Lactobacilli
- Agar MRS
- Agua peptonada

3.3. POBLACION Y MUESTRA

3.3.1. Población

La población estuvo conformada por las muestras de bebidas obtenidas de la fermentación del kéfir de agua con sustratos, sometidas a diferentes tratamientos.

Para Mucha et al. (2020) “La población es un conjunto de elementos de estudio, compuesto por el lugar para caracterizar las unidades de estudio y está constituida por criterios de selección”. Una vez definido la población se procederá a delimitar la muestra que será objeto de estudio.

3.3.2. Muestra

Se consideraron muestras de 1 L de cada tratamiento, las cuales fueron evaluadas en los laboratorios de Procesos Agroindustriales y Biotecnología.

Para López (2004) “La muestra es un subconjunto o población que será objeto de estudio en la investigación, existen procedimientos para obtener una cantidad de los componentes de la muestra como fórmulas, lógica así como también es una parte representativa de la población”

3.4. TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN

El tipo de investigación de este trabajo es aplicada, debido a que se evaluará los parámetros fisicoquímicos de la fermentación de kéfir de agua con sustratos de mashua negra, yacón y espirulina.

Para Ramos (2020) el nivel de investigación es “explicativo porque el planteamiento de la hipótesis de investigación busca determinar los elementos de causa y efecto en el proceso de fermentación”.

3.5. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

El diseño de investigación es experimental, debido a que se maneja la variable independiente que son: proporciones de sustratos (Harina de mashua negra, yacón y espirulina), tiempo de evaluación (1,7,14 y 21 días), con el objetivo de determinar la cantidad de bacterias ácido lácticas producto de la fermentación.

3.6. VARIABLES E INDICADORES

3.6.1. Variable independiente

- Harina de mashua negra
- Harina de yacón
- Harina de espirulina
- Tiempo de fermentación F1(Inicial y 72 horas) y F2(1,7,14 y 21 días)

3.6.2. Variable dependiente

- Acidez titulable (% ácido láctico)
- Sólidos solubles °Brix
- pH
- Recuento de bacterias ácido lácticas (UFC/ml)
- Olor
- Color
- Sabor

3.7. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Tabla 15

Operacionalización de variables

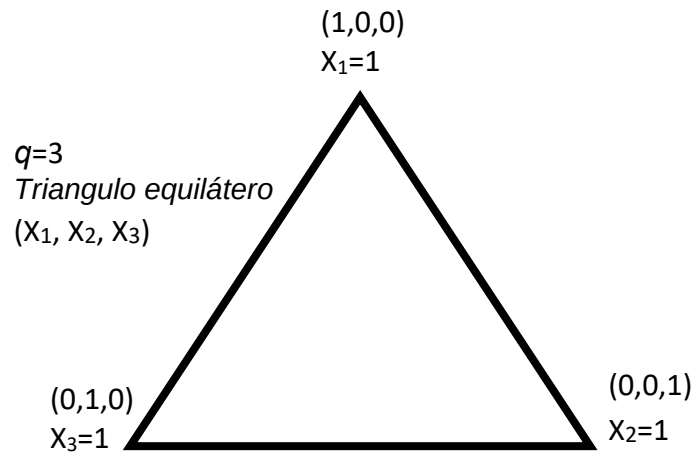
Variables	Indicadores
Variable Independiente	
Proporciones de kéfir de agua, mashua negra, yacón y espirulina, tiempo de fermentación	Harina de mashua negra (%) Harina de yacón (%) Harina de espirulina (%) Tiempo de fermentación F1(Inicial y 72 horas) y F2(1,7,14 y 21 días)
Variable dependiente	
Evaluaciones fisicoquímicas	Acidez titulable (% ácido láctico) Sólidos solubles (°Brix) pH
Evaluación funcional	Bacterias ácido lácticas (UFC/ml)
Evaluación sensorial	Olor Color Sabor

3.8. DISEÑO EXPERIMENTAL

En la presente investigación se siguió los lineamientos de un diseño de mezclas de vértices extremos, esta metodología empleada permitió explorar y desarrollar una combinación posible de ingredientes (mashua negra, yacón y espirulina). Este diseño incluye la combinaciones puras e intermedias dado que solo uno de ellos representa el 100% de la mezcla y el resto 0%. A continuación, en la figura 2 se muestra la representación gráfica de este diseño.

Figura 3

Representación gráfica del diseño de mezclas tipo vértices extremos



Nota: Tomado de “Análisis y diseño de experimentos” .Tomado de (Gutiérrez & De la vara, 2004, p. 585 citado por Salazar et al., 2016)

X_1 = Harina de mashua negra, X_2 =Harina de yacón y X_3 = Harina de espirulina

La suma de todos los componentes q será igual a un valor fijo. $X_1+X_2+.....+X_q=T$,

donde T es igual al 100%. Además, cada componente está sujeto a límites inferior (L_j) y superior (U_j):

$$L_j \leq X_j \leq U_j,$$

lo cual puede ser tan simple como $L_j = 0\%$ y $U_j = 100\%$ o más restrictivo.

(Gutiérrez & De la vara, 2004, p. 585 citado por Salazar et al., 2016)

En la tabla 16 se aprecia el porcentaje de adición de los ingredientes valorados en porcentajes, de acuerdo al diseño de mezclas formulado.

Tabla 16

Formulación de sustratos en base a diferentes proporciones

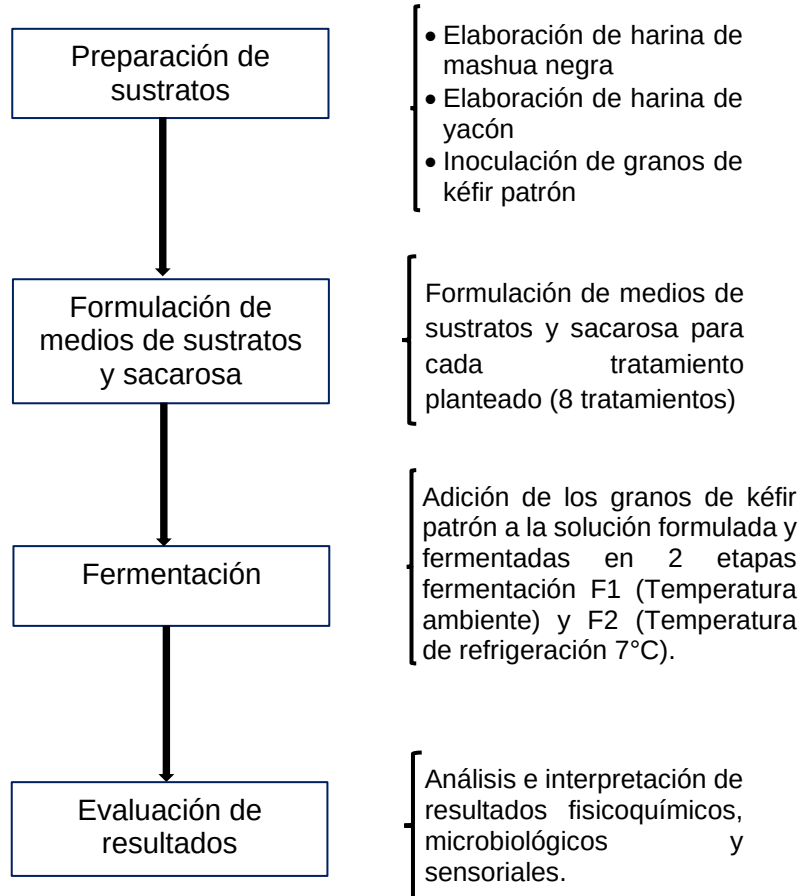
N° T	H-mn (%)	H-y (%)	H-e (%)	Granos de kéfir (%)	Azúcar (%)	Agua (%)	Total
T0	0	0	0	15	12	73	100
T1	0	5	0	15	12	68	100
T2	0	4,9	0,1	15	12	68	100
T3	5	0	0	15	12	68	100
T4	4,9	0	0,1	15	12	68	100
T5	1,2	3,7	0,03	15	12	68	100
T6	1,2	3,7	0,1	15	12	68	100
T7	3,7	1,2	0,03	15	12	68	100
T8	3,7	1,2	0,1	15	12	68	100

H-mn: Harina de mashua negra; **H-y:** Harina de yacón; **H-e:** Harina de espirulina **T0:** Sin influencia de sustratos

3.9. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Figura 4

Diagrama de flujo del desarrollo experimental



Descripción de las operaciones para la obtención del kéfir de agua

3.9.1. Preparación de sustratos

Para el desarrollo de este trabajo de investigación, la materia prima a utilizar como son la mashua negra y yacón fueron adquiridas del mercado Nery de la ciudad de Huamanga-Ayacucho seguidamente se procedió a realizar el deshidratado hasta la obtención de harinas; en caso de la espirulina fue adquirida de la empresa Musuq Kawsay, a continuación, se detalla el proceso de elaboración.

3.9.1.1. Elaboración de harina de mashua negra

- **Recepción:** Se recepcionó la materia prima (mashua negra) adquirida con la previa verificación de buen estado.
- **Selección:** Se separó los tubérculos dañados.

- **Lavado:** Se procedió a lavar el tubérculo con agua potable por inmersión con el objetivo de retirar la tierra o cualquier sustancia ajena.
- **Cocción:** Se realizó la cocción hasta lograr una consistencia blanda.
- **Troceado:** Se realizó la reducción de tamaño por tiras.
- **Secado:** Con un deshidratador de 65°C y tiempo de 24 horas se procedió a deshidratar hasta llegar a humedad adecuada.
- **Molienda:** Con un molino de granos se procedió a moler hasta obtener la harina de mashua negra.
- **Tamizado:** Con el uso de un tamiz industrial de 200 µm se procedió a eliminar partículas ajenas a la harina de mashua negra.
- **Envasado:** Para el envasado se usó un frasco de vidrio para su mejor conservación y luego se rotuló para su identificación.
- **Almacenamiento:** Se almacenará en un envase previamente desinfectado y secado.

3.9.1.2. Elaboración de harina de yacón

- **Recepción:** Se recepcionó la materia prima (yacón) verificando el buen estado.
- **Selección:** Se apartó los tubérculos de yacón dañados.
- **Lavado:** Para el lavado se utilizó agua potable en inmersión con el fin de retirar materia extraña.
- **Pelado:** Se eliminó la cáscara con la ayuda de un pelador.
- **Troceado:** Se realizó el troceado con dimensiones que permitieron el secado de manera rápida y uniforme.
- **Secado:** Con el uso del deshidratador se realizó el secado con T de 65°C por tiempo de 24 horas hasta llegar a una humedad adecuada.
- **Molienda:** Se realizó con un molino de granos hasta obtener la harina de yacón.
- **Tamizado:** Con una malla industrial de 200 µm se realizó el tamizado para separar partículas ajenas.

- **Envasado:** Para el envasado se utilizó frasco de vidrio para su mejor conservación.
- **Almacenamiento:** Se almacenó en un lugar fresco y seco para evitar su deterioro.

3.9.1.3. Inoculación de granos de kéfir patrón

Para la inoculación de los granos de kéfir se tomará como referencia de (Rodas, 2019), con algunas modificaciones de acuerdo al panorama de donde se hará el siguiente procedimiento experimental.

- **Recepción:** Los granos de kéfir será recepcionado verificando el tamaño y aspecto.
- **Lavado:** Los granos de kéfir serán lavados con agua hervida fría y se procederá a escurrirlas correctamente.
- **Inoculación:** los granos de kéfir serán sumergidas en agua previamente azucarada en un frasco de vidrio desinfectado y con una tapa rosca sellada correctamente.
- **Incubación:** se realizará a temperatura ambiente debidamente sellada por 72 horas.
- **Conservación:** Los granos de kéfir serán almacenados para su uso destinado.

3.9.2. Formulación de sustratos y sacarosa

- **Recepción:** Se recepcionó los sustratos (harina de mashua negra, yacón y espirulina).
- **Pesado:** De acuerdo a los tratamientos planteados se realizó el pesado de sustratos con una balanza analítica.
- **Esterilización:** Los frascos para cada tratamiento fueron esterilizadas en una autoclave a 120°C por 30 min y enfriado.
- **Mezclado:** Se procedió a mezclar la sacarosa y las harinas de mashua negra, yacón y espirulina en cantidades ya establecidas con el agua previamente hervida fría y los frascos identificados.

3.9.3. Fermentación

- **Pesado:** Los granos de kéfir de agua fueron pesados con 150g para cada tratamiento.
- **Inoculación:** La inoculación se realizó con la introducción de los granos de kéfir de agua en cada frasco con las debidas condiciones de inocuidad.
- **Primera fermentación F1:** La fermentación se dió durante 72 horas a temperatura ambiente de la ciudad de Ayacucho en promedio 19°C.
- **Trasvasado:** Se realizó la separación de los granos de kéfir y la bebida fermentada en envases previamente esterilizados.
- **Segunda fermentación F2:** la segunda fermentación se dió después del trasvasado de la primera fermentación.
- **Almacenamiento:** Obtenida la bebida fermentada se procedió a refrigerar a 7°C para su posterior evaluación en 21 días.

3.10. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

3.10.1. Determinación de humedad de la harina de mashua negra y yacón

De acuerdo a la (NTP205.037:2022, 2022) se basa en la determinación de humedad por pérdida de peso hasta alcanzar un peso constante en la estufa de aire.

La humedad fue determinada mediante la estufa caliente a temperatura constante de 105°C por 4 horas con la muestra previamente pesada.

3.10.2. Análisis fisicoquímico de la bebida fermentada

3.10.2.1. Acidez titulable (% ácido láctico)

La acidez titulable se realizó mediante el análisis volumétrico con la titulación ácido base tomado en cuenta la (NTP203.072:1977, 2012) para describir el siguiente procedimiento:

- Se pesará 5g de muestra en un matraz de Erlenmeyer contenida con 20 ml de agua destilada.
- Agregar 5 gotas de fenolftaleína.
- Titular con solución base de NaOH 0,1N hasta observar el cambio de color.
- Realizar el registro del gasto volumétrico que se ha consumido.

Fórmula

$$Acidez \frac{g}{l} = \frac{Mqq \times N \times A}{B} \times 100$$

Donde:

Mqq: Miliequivalente del ácido láctico

N: Normalidad del NaOH 0,01

A: Volumen gastado del NaOH

B: Volumen de la muestra titulada

3.10.2.2. Sólidos solubles (°Brix)

Teniendo como referencia la norma (NTP203.072:1977,2012) para la determinación de sólidos solubles (°Brix) se utilizó un refractómetro digital a mano.

- Se prepara la muestra por duplicado
- Se coloca unas gotas de muestra en el prisma del refractómetro
- Se cierra la tapa del prisma ligeramente, observar la medida y anotar los resultados
- Realizada la lectura se lava con agua destilada y secar suavemente

3.10.2.3. pH

Para la determinación del pH se realizó en base a la (NTP 207.018:2011, 2016) haciendo uso de un pH metro previamente graduada.

- Se prepara la muestra tomando 2 ml
- Se agregará agua destilada hasta completar 10 ml y homogenizar
- Medir el pH y anotar los resultados

3.10.3. Análisis microbiológico

Para la realización de los análisis microbiológicos se toma como base según los reglamentos del (CODEX STAN 243-2003, 2022)

3.10.3.1. Recuento de bacterias ácido lácticas

Para el procedimiento del cultivo para bacterias ácido lácticas BAL UFC/ml se realizó en base al (ISO 15214:1998, 2021) usando el medio de cultivo agar MRS (El agar de Man Rogosa Sharpe) que es un medio que favorece el crecimiento de Lactobacilli (bacterias ácido lácticas) para lo cual se realizó los siguientes procedimientos:

- Antes del inicio del procedimiento se realizará la preparación y esterilización de los materiales de vidrio en una autoclave por 30 min a 125°C.
- Para la preparación del medio de cultivo se utilizará el agar MRS siguiendo las instrucciones de preparación.
- La dilución 10^{-1} y 10^{-5} se realizará con agua peptonada previamente preparada en tubos de ensayo y llevadas a esterilizar.
- Para la siembra se realizará en placas Petri previamente esterilizadas y con el agar MRS diluida a temperatura ambiente e identificadas para su diferenciación.
- Para la incubación se llevará a cabo en un medio sin oxígeno con temperaturas de 37°C por un tiempo de 24 a 48 horas.
- Para el recuento se utilizará la cuenta colonias.

Aislamiento y caracterización de bacterias lácticas

- Se seleccionará las cepas de BAL tomando en cuenta sus características fenotípicas, como la morfología de sus colonias y la observación microscópica después de realizar la tinción Gram.
- Para la identificación de bacterias ácido lácticas en las placas se deberá formar colonias con características de color blanco cremoso, con forma redonda, superficie convexa, puntiformes, con bordes enteros y bacilos Gram positivos. Lo que corresponde a características previamente reportadas por (Ramírez y Vélez, 2016)

3.10.3.2. Coliformes totales

Para la determinación de coliformes totales se utiliza el agar MacConkey de acuerdo a las especificaciones.

- Para el inicio de las preparaciones se lleva a cabo la preparación de materiales llevadas a esterilizar.
- Se realiza la preparación del agar MacConkey con la dilución con agua destilada para luego llevar a la autoclave por 30 min a 125°C.
- La dilución se llevará a cabo con agua peptonada con diluciones de 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} que serán sembradas por cada muestra.

- Preparada las diluciones se lleva a incubar a 37°C por 24 horas.
- Pasadas las 24 horas se determinará los tubos que hayan resultado positivos según sea el caso.

3.10.4. Análisis sensorial

Se realizará mediante una evaluación sensorial que se llevará a cabo con 30 jueces no entrenados con edades de entre 20 y 50 años con el fin de conocer la aceptabilidad de la bebida fermentada en cual los atributos evaluados serán:

- Olor
- Color
- Sabor

Los jueces evaluarán los parámetros a través de una escala hedónica de 1 a 5 las cuales fueron:

- 5: Muy bueno
- 4: Bueno
- 3: Regular
- 2: Malo
- 1: Muy malo

3.11. DISEÑO ÓPTIMO DE EXPERIMENTOS DOE EN LA EVALUACIÓN DE DATOS

Para optimizar las proporciones de sustratos utilizados para la fermentación del kéfir de agua se utilizará el Diseño Óptimo de Experimentos (DOE) que es una herramienta que permitirá obtener información anticipando resultados futuros en donde se controlarán las proporciones de mashua negra, yacón y espirulina mediante el diseño de mezclas, con el fin de determinar las combinaciones óptimas que maximicen las características fisicoquímicas en ácido láctico, °Brix y pH.

3.11.1. Modelización del experimento

Los resultados experimentales (% ácido láctico, °Brix y pH) se ajustarán a un modelo estadístico cuadrático para investigar el efecto de los sustratos sobre la respuesta, una primera aproximación será ajustar a un modelo de primer orden:

$$(y) = \beta_0 + \sum_{i=1}^q \beta_i x_i$$

Donde (y) es el valor esperado de la variable de respuesta, sin embargo, debido a la restricción de X_1 (harina de mashua negra) + X_2 (harina de yacón) + X_3 (harina de espirulina) =1, es posible demostrar que los parámetros $\beta_0, \beta_1, \beta_2, \dots, \beta_i$ no son únicos (Montgomery, 2017)

Cuando se ajusta un modelo cuadrático también será necesario incorporar las restricciones $X_1+X_2+X_3=1$, ya que esto le dará una característica especial al modelo cuadrático para los tres sustratos X_1, X_2, X_3 , por lo que el polinomio de segundo grado esta dado por:

$$(y) = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2$$

Debido a que la restricción de la suma de las proporciones siempre es igual a 1 el efecto de un ingrediente en un diseño de mezclas es diferente al efecto de un factor en un experimento, donde se puede mover el factor manteniendo fijos a los demás componentes. (Gutiérrez & De la vara, 2004).

3.12. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los análisis estadísticos se realizaron con el software estadístico Minitab, se realizó el análisis de varianza (ANOVA) con nivel de significancia $\alpha=0.05$ y al presentar diferencias significativas entre grupos ($p<0,05$), se realizó la comparación de medias por prueba de comparaciones Tukey.

3.13. TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS

Para este trabajo de investigación se describen distintas operaciones para el procesamiento y análisis de datos que se detallan a continuación:

- a) **Recolección de datos:** se compiló datos para el estudio considerando los siguientes aspectos:
 - Evaluación fisicoquímica (pH, °Brix y Acidez titulable)
 - Evaluación microbiológica (BAL UFC/ml)
 - Evaluación sensorial (olor, color y sabor)
- b) **Procesamiento de los datos:** Se utilizó programas como Minitab para la formulación y optimización de proporciones por superficie de respuestas en los 8 tratamientos y Microsoft Excel para el procesamiento de datos.
- c) **Presentación de resultados:** Los resultados obtenidos se presentan con figuras con representación estadística e interpretación de resultados con tablas que se muestran en la interpretación de resultados.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Determinación de humedad de la harina de mashua negra, yacón y espirulina

Tabla 17

Humedad de la harina de mashua negra, yacón y espirulina

	H-mn	H-y	H-e
Humedad (%)	8,33 ± 0,04	7,22 ± 0,05	5,06 ± 0,06
H-mn: Harina de mashua negra H-y: Harina de yacón H-e: Harina de espirulina			

La humedad de la harina de mashua negra presenta un valor de 8,33%, como se observa en la tabla 17, esta cantidad es próxima a lo reportado por (Parisaca, 2023) quien reportó una humedad de 8%.

Para el caso de la humedad en harina de yacón presenta un valor de 7,22% esta cantidad es próxima a lo reportado por (García et al., 2022) quien obtuvo un valor próximo de 5,20%; mientras que la humedad de harina de espirulina presenta un valor de 5,06%. De acuerdo a las evaluaciones obtenidas para harina de mashua negra y yacón cumplen con los parámetros establecidos en la (NTP205.037:2022, 2022) para harinas que deban cumplir con una humedad menor al 15%.

4.2. Análisis fisicoquímico de la primera fermentación (F1)

Tabla 18

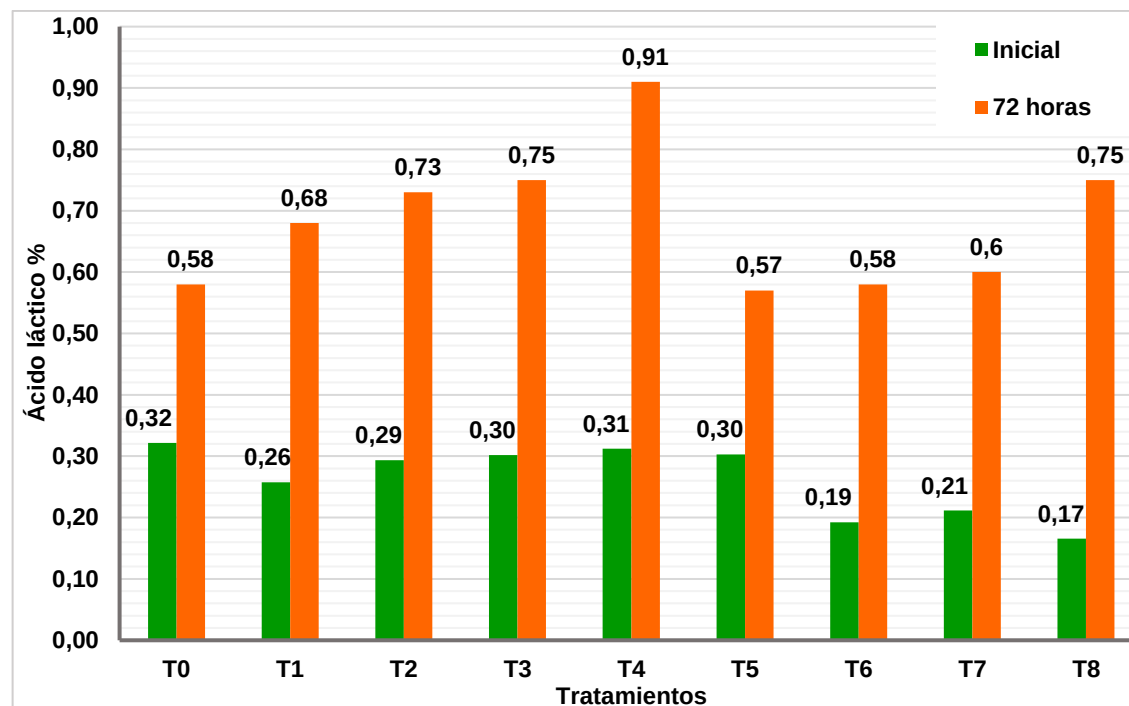
Resultados para Ácido láctico (%), °Brix y pH

°N tratamiento	Inicial			72 horas		
	Ácido láctico %	°Brix	pH	Ácido láctico %	°Brix	pH
T0	0,32 ± 0,01	15,0	6,26 ± 0,02	0,58 ± 0,01	7,60	3,15 ± 0,02
T1	0,26 ± 0,01	15,2	5,38 ± 0,005	0,68 ± 0,03	8,40	4,38 ± 0,02
T2	0,29 ± 0,02	15,4	5,35 ± 0,02	0,73 ± 0,01	9,80	4,40 ± 0,2
T3	0,30 ± 0,01	15,0	5,12 ± 0,01	0,75 ± 0,02	8,80	3,80 ± 0,15
T4	0,31 ± 0,04	15,4	5,02 ± 0,005	0,91 ± 0,02	9,20	3,82 ± 0,04
T5	0,30 ± 0,01	15,6	5,07 ± 0,01	0,57 ± 0,01	9,60	4,06 ± 0,03
T6	0,19 ± 0,01	15,2	5,18 ± 0,01	0,58 ± 0,03	9,80	4,08 ± 0,02
T7	0,21 ± 0,01	15,0	5,08 ± 0,01	0,60 ± 0,02	10,2	3,81 ± 0,01
T8	0,17 ± 0,01	15,2	5,11 ± 0,02	0,75 ± 0,06	8,20	3,80 ± 0,02

4.2.1. Acidez titulable (Ácido láctico %) de la primera fermentación (F1)

Figura 5

Comparación del incremento de ácido láctico % inicial y 72 horas de fermentación



T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
H-y:5%	H-y:4,9%	H-mn: 5%	H-mn:4,9%	H-mn:1,2%	H-mn :1,2%	H-mn:3,7%	H-mn:3,7%
	H-e:0,1%		H-e: 0,1%	H-y :3,7%	H-y : 3,7%	H-y :1,2%	H-y :1,2%
				H-e: 0,03%	H-e : 0,1%	H-e :0,03%	H-e :0,1%

H-y: Harina de yacón H-mn: Harina de mashua negra H-e: Harina de espirulina

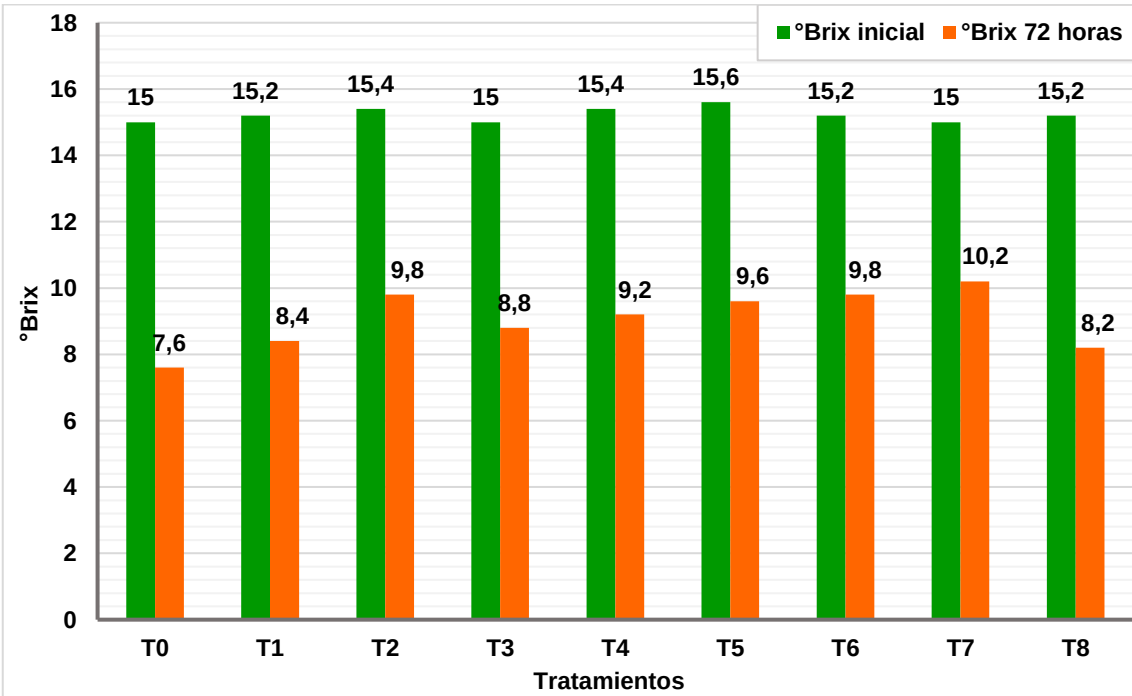
Los resultados para ácido láctico de los tratamientos evaluados al inicio y a las 72 horas de fermentación según el análisis de varianza (ANOVA) indica que existe efecto significativo entre los tratamientos, es decir el valor $p < 0,05$ como se muestra en el anexo 7, mostrando que las medias de los valores de ácido láctico son homogéneas entre sí, esto sugiere que hay cambios significativos conforme sucede el proceso de fermentación. En los resultados obtenidos presentó un incremento en sus valores, con respecto al T0, presentó un incremento de 0,32 a 0,58%; en caso del T4 un incremento de 0,31 a 0,91% es el que obtuvo mayor contenido de ácido láctico, mientras que, el valor más bajo fue el T5 con un incremento de 0,30 a 0,57%, este incremento en ácido láctico sugiere que las BAL tuvieron una buena adaptación a las condiciones del medio, logrando un crecimiento y actividad metabólica constante. Estos resultados son similares a lo reportado por (Moreno, 2022) quien utilizó pulpa de cauje como sustrato para la fermentación del kéfir de agua con proporciones de 10,20 y 30% de pulpa de cauje, panela 10% y granos de kéfir al 16,5% por 48 horas a temperatura ambiente obteniendo como resultados para ácido láctico un incremento de 0,20; 0,79 y 0,77 a

1,04; 1,67 y 1,64% respectivamente explicando que esto podría ser efecto del grado de madurez del cauje en la fermentación con los granos de kéfir; de igual forma, (Caiza, 2019) que utilizó lactosuero y leche de chocho con kéfir de agua como fermento realizó tratamientos con 50 horas de fermentación determinando que el mejor tratamiento fue con un 50% de lactosuero dulce, 50% de leche de chocho y panela resultando ácido láctico con un valor de 0,89% además deduce que la acidez del kéfir de agua fue influenciada por el tipo de endulzante utilizado y el tiempo de fermentación además de combinación de los 2 sustratos que son responsables del sabor ácido del kéfir, estos cambios generados a nivel de acidez se producen de acuerdo a cada sustrato con que el que se utiliza para la fermentación generando variación en la composición microbiológica. Cabe destacar que los resultados para ácido láctico de esta investigación están dentro de los parámetros del (CODEX STAN 243-2003, 2022). Por lo tanto, es importante tener en cuenta que los niveles de acidez en las diferentes bebidas varían debido a una variedad de factores y los ingredientes de cada muestra. (Aguilar et al., 2019).

4.2.2. Sólidos solubles (°Brix) de la primera fermentación (F1)

Figura 6

Comparación de la disminución de °Brix inicial y 72 horas de fermentación



T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
H-y:5%	H-y:4,9%	H-mn: 5%	H-mn:4,9%	H-mn:1,2%	H-mn :1,2%	H-mn:3,7%	H-mn:3,7%
	H-e:0,1%		H-e : 0,1%	H-y :3,7%	H-y : 3,7%	H-y :1,2%	H-y :1,2%
				H-e: 0,03%	H-e : 0,1%	H-e :0,03%	H-e :0,1%
H-y: Harina de yacón H-mn: Harina de mashua negra H-e: Harina de espirulina							

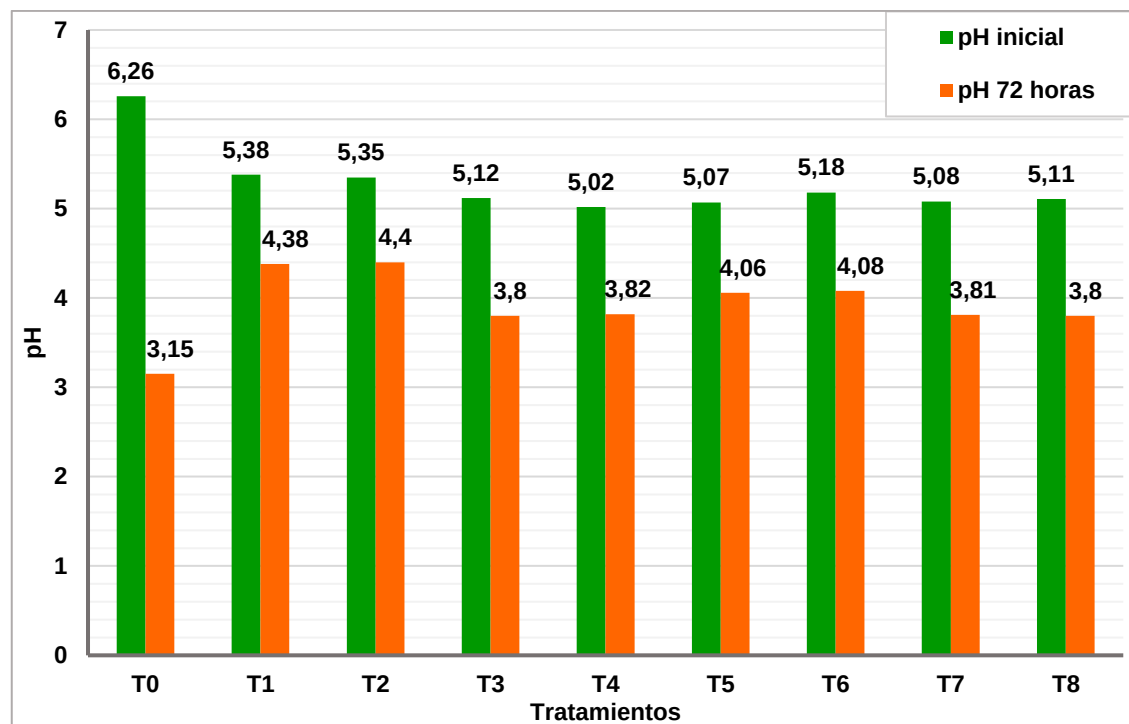
Los sólidos solubles (°Brix) de los tratamientos evaluados al inicio y a las 72 horas de fermentación según el análisis de varianza (ANOVA) indica que existe una diferencia significativa entre los tratamientos, como lo indica el análisis de Tukey ($p < 0,05$) como se muestra en el anexo 7, mostrando que las medias de los valores no son homogéneas entre sí, esto sugiere que existe una clara disminución significativa entre el inicio y las 72 horas de fermentación.

En los resultados obtenidos presentaron una disminución en sus valores en el transcurso de los días evaluados respecto a la inicial, bajo estas condiciones se resalta el análisis de sólidos solubles como se destaca los cambios en los 8 tratamientos y el control T0, se mostró que hubo disminución de valores presentándose así que el T0 presentó una reducción de 15 a 7,6 °Brix sin influencia de sustratos, en caso del T8 se tuvo una reducción más baja de 15,2 a 8,2 °Brix; mientras que el T7 obtuvo un valor mayor de 15 a 10,20 °Brix, la disminución de los °Brix ocurre en todos los tratamientos por influencia de las proporciones de los diferentes sustratos, estos valores difieren con los valores reportados por (Quinatoa, 2023) quien utilizó diferentes niveles de pulpa de uvilla y oca (0,10,20 y 30%) realizó una fermentación sumergida con proporción 6% de panela y granos de kéfir con 15% con un tiempo de 72 horas teniendo como resultado un valor de 3,30 °Brix empleando solo 30% de pulpa de uvilla y un valor de 2,71 °Brix sin influencia de sustratos determinando que a medida que aumentaba los niveles de pulpa de uvilla los sólidos solubles aumentan, por otro lado (Ruiz et al., 2015) realizó una comparación de kéfir de leche y agua para realizar fermentación con diferentes diluciones de arándano determinando que la concentración de azúcar en el kéfir de agua es mayor a comparación del kéfir de leche obteniendo un valor de 6,9°Brix tras 24 horas de fermentación deduciendo que la incrementación de extracto de arándano disminuye los °Brix de las muestras. Por otro lado (Buranelo et al., 2022) comenta que los sustratos del kéfir de agua desciende si se aumenta el tiempo de fermentación además que la variación de °Brix ocurre cuanto más actividad microbiana se produce, esto debido al metabolismo de la sacarosa y el crecimiento microbiano depende del catabolismo del azúcar. Con los resultados ya mostrados se observa que los tratamientos establecidos se observó consumo de los °Brix reduciéndose su valor inicial demostrándose el consumo del sustrato por parte de la biomasa del kéfir de agua inoculado.

4.2.3. pH de la primera fermentación (F1)

Figura 7

Comparación en la disminución de pH inicial y 72 horas de fermentación



T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
H-y:5%	H-y:4,9%	H-mn: 5%	H-mn:4,9%	H-mn:1,2%	H-mn :1,2%	H-mn:3,7%	H-mn:3,7%
	H-e:0,1%		H-e : 0,1%	H-y :3,7%	H-y : 3,7%	H-y :1,2%	H-y :1,2%
			H-e: 0,03%	H-e : 0,1%	H-e : 0,1%	H-e :0,03%	H-e :0,1%

H-y: Harina de yacón H-mn: Harina de mashua negra H-e: Harina de espirulina

El pH de los tratamientos evaluados al inicio y a las 72 horas de fermentación según el análisis de varianza (ANOVA) indica que existe diferencia significativa entre los tratamientos, como lo indica el análisis de medias Tukey ($p < 0,05$) como se muestra en el anexo 7, mostrando que las medias de los valores no son homogéneas entre sí, esto debido a que los valores iniciales y a las 72 horas presentan diferencias como producto de la disminución de pH por medio de la fermentación.

En los resultados obtenidos tuvieron reducciones en sus valores en el transcurso de los días evaluados en donde el T0 tuvo una disminución de 6,26 a 3,15 sin influencia de sustratos, por otro lado, el T3 tuvo una disminución de 5,12 a 3,8 y el T8 de 5,11 a 3,8 obteniendo valores más bajos. Como se destaca en los resultados obtenidos se puede apreciar cambios en todos los tratamientos establecidos desde el momento del inicio de la fermentación por influencia de sustratos, estos valores obtenidos son similares a los reportados por (Moreno, 2022) quien obtuvo valores de 3,13 y 3,20 al utilizar pulpa de cauje como sustrato provocando una disminución del pH pero además describe que a

partir de niveles superiores de pulpa de cauje el pH aumenta que puede ser debido al pH propio del sustrato el cual se utiliza, por otro lado se tiene los resultados de (Caiza, 2019) que realizó formulaciones con 25% de lactosuero dulce y 75% de leche de chocho con fermentación de 50 horas con temperaturas de 20-25°C obteniendo valores de 4,41 y 4,77 observando que el pH descendió rápidamente debido a la acción de microorganismos que producen ácido en la bebida, este declive es importante debido a que al disminuir los valores de pH durante la fermentación láctica impiden que las bacterias gran negativas y formadoras de esporas se proliferen. Con estas características evaluadas se puede afirmar que la bebida se considera ligeramente ácida por las características que presenta ya que esta disminución en el valor de pH se considera usual en todos los procesos de fermentación con el crecimiento bacteriano, este rango que presenta la bebida fermentada se puede considerar óptimo tomando como referencia investigaciones con diversos sustratos.

4.3. Análisis fisicoquímico de la segunda fermentación (F2)

4.3.1. Acidez titulable (% Ácido láctico) de la segunda fermentación (F2)

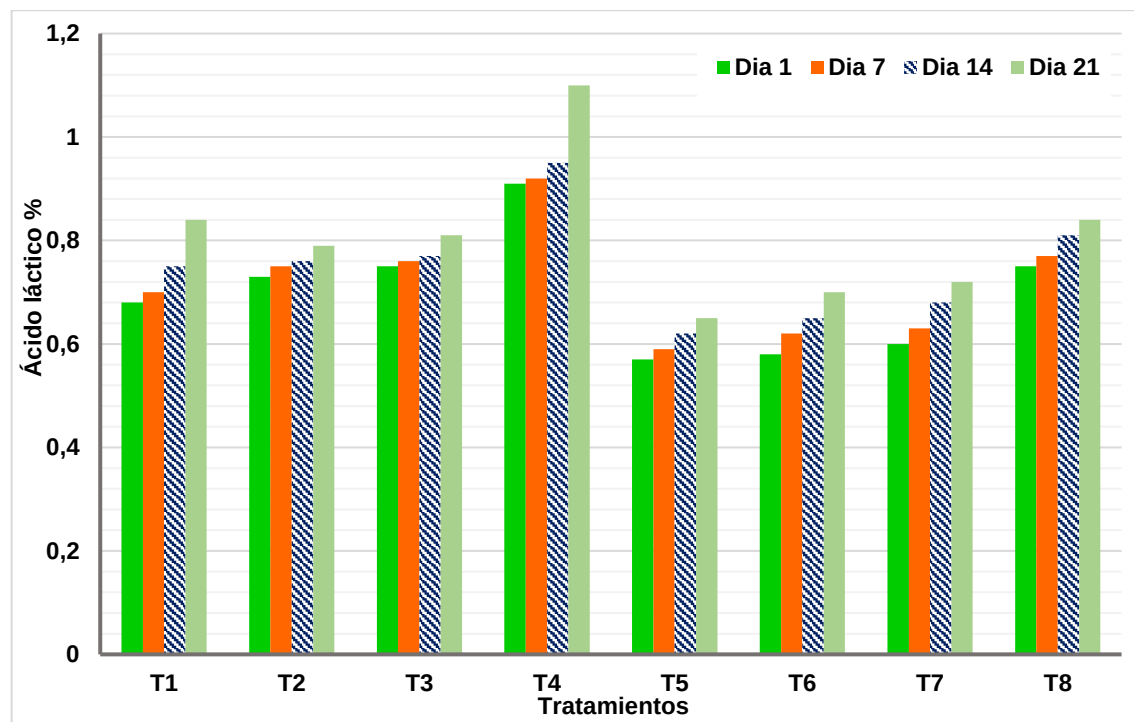
Tabla 19

Resultados obtenidos para la acidez titulable evaluadas en 1,7,14 y 21 días

N° Tratamiento	Días			
	1	7	14	21
	%	%	%	%
T1	0,68±0,03	0,7 ±0,01	0,75 ±0,01	0,84 ±0,01
T2	0,73±0,01	0,75 ±0,03	0,76 ±0,04	0,79 ±0,01
T3	0,75±0,02	0,76 ±0,02	0,77 ± 0,01	0,81 ±0,02
T4	0,91±0,02	0,92 ±0,03	0,95 ±0,03	1,1 ± 0,01
T5	0,57±0,01	0,59 ±0,02	0,62 ±0,01	0,65 ±0,02
T6	0,58±0,03	0,62±0,01	0,65 ± 0,02	0,70 ±0,01
T7	0,60±0,02	0,63±0,03	0,68 ± 0,01	0,72 ±0,03
T8	0,75±0,06	0,77±0,02	0,81 ±0,02	0,84 ±0,01

Figura 8

Comparación del incremento en ácido láctico evaluadas en 1,7,14 y 21 días



T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
H-y:5%	H-y:4,9%	H-mn: 5%	H-mn:4,9%	H-mn:1,2%	H-mn :1,2%	H-mn:3,7%	H-mn:3,7%
	H-e:0,1%		H-e: 0,1%	H-y :3,7%	H-y : 3,7%	H-y :1,2%	H-y :1,2%
				H-e: 0,03%	H-e : 0,1%	H-e :0,03%	H-e :0,1%

H-y: Harina de yacón **H-mn:** Harina de mashua negra **H-e:** Harina de espirulina

Los valores para ácido láctico evaluados durante los 21 días según el análisis de varianza (ANOVA) no poseen diferencia significativa debido a que el valor de p (0,278) es mayor a α (0,05) como se detalla en el anexo 8, esto podría ser debido a los valores presentados incrementan de manera lenta a diferencia de la primera fermentación F1. Los resultados de la evaluación a los 21 días presentó que el T5 obtuvo un valor menor de 0,65%; mientras que; el T4 presentó un valor mayor de 1,1% a diferencia de los otros tratamientos, similar a esta evaluación lo reporta (Pacheco et al., 2023) quien evaluó la estabilidad fisicoquímica de una bebida fermentada del kéfir de agua con jugo de uva en una segunda fermentación evaluando su estabilidad por 7 semanas almacenadas en refrigeración a 7°C determinando que para resultados en acidez total en sus valores no hay diferencia significativa entre la primera y séptima semana de evaluación; además aclara que incluso si la bebida está en refrigeración continua una fermentación principalmente de levaduras y bacterias acéticas, como resultado se ve el incremento de acidez volátil. Cabe recalcar que los resultados de evaluación a los 21 días siguen dentro de los parámetros descritos en (CODEX STAN 243-2003, 2022)

4.3.2. Sólidos solubles (°Brix) en la segunda fermentación (F2)

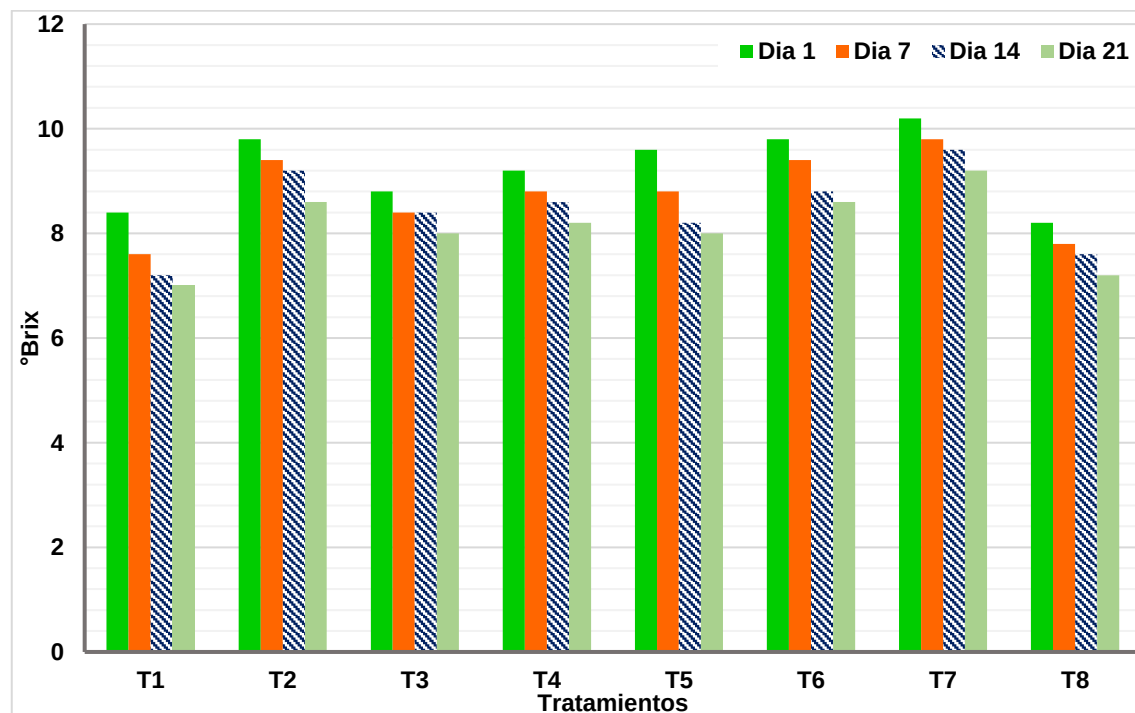
Tabla 20

Resultados obtenidos en sólidos solubles °Brix en 1,7,14 y 21 días

N° Tratamiento	Días			
	1	7	14	21
T1	8,40	7,60	7,20	7,0
T2	9,80	9,40	9,20	8,60
T3	8,80	8,40	8,40	8,0
T4	9,20	8,80	8,60	8,20
T5	9,60	8,80	8,20	8,0
T6	9,80	9,40	8,80	8,60
T7	10,20	9,80	9,60	9,20
T8	8,20	7,80	7,60	7,20

Figura 9

Comparación de la disminución de °Brix evaluadas en 1,7,14 y 21 días



T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
H-y:5%	H-y:4,9%	H-mn: 5%	H-mn:4,9%	H-mn:1,2%	H-mn :1,2%	H-mn:3,7%	H-mn:3,7%
	H-e:0,1%		H-e: 0,1%	H-y :3,7%	H-y : 3,7%	H-y :1,2%	H-y :1,2%
				H-e: 0,03%	H-e : 0,1%	H-e :0,03%	H-e :0,1%

H-y: Harina de yacón H-mn: Harina de mashua negra H-e: Harina de espirulina

Los valores para sólidos solubles °Brix evaluados hasta los 21 días, según el análisis de varianza (ANOVA) indica que hay una diferencia estadísticamente significativa entre los días evaluados, además la prueba de Tukey ($p < 0,05$) muestra que los °Brix en el día 7 presenta un valor promedio mayor a comparación que en los días 7,14 y 21 como se muestra en el anexo 8. Esto se refleja en los valores mostrados resultando que los valores para °Brix tienen una disminución estable que indicarían que la fermentación alcanzó un estado estacionario, con menor consumo de azúcares disponibles.

Los valores obtenidos en el T1 presenta un valor menor de 7 °Brix y valor mayor en el T7 con 9,2 °Brix esta disminución de valores también lo reporta (Lucero, 2015) quien evaluó los °Brix en una bebida fermentada de fresa con miel por un tiempo de 9 días reportando una disminución de 20,02 a 8,87 °Brix deduciendo que este proceso ocurre por el uso de azúcares solubles para su actividad metabólica. Durante la segunda fermentación, cuando los gránulos se retiran y la bebida sigue fermentando con la adición de sustratos, los °Brix siguieron disminuyendo, aunque a un ritmo más lento, ya que parte de los azúcares se han consumido en la primera fermentación.

4.3.3. pH en la segunda fermentación (F2)

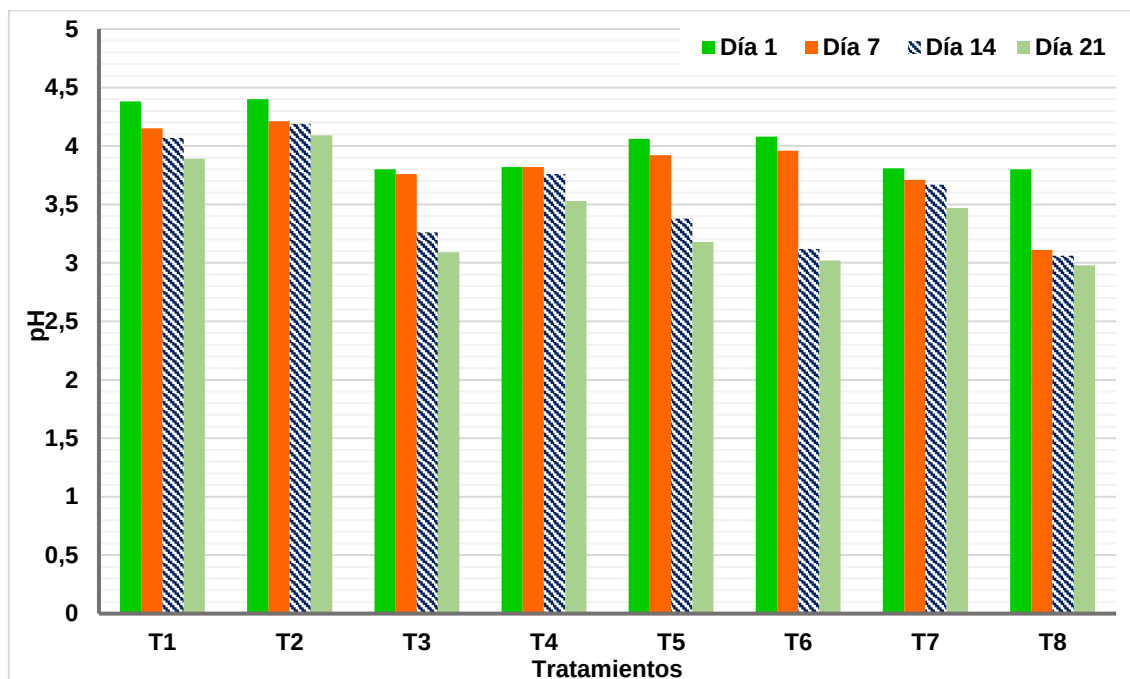
Tabla 21

Resultados obtenidos del pH en la segunda fermentación

N° Tratamiento	Días			
	1	7	14	21
T1	4,38±0,02	4,15 ±0,05	4,07 ±0,02	3,89 ±0,02
T2	4,40 ±0,2	4,21 ±0,03	4,19 ±0,01	4,09 ±0,005
T3	3,80±0,15	3,76 ±0,02	3,26 ±0,01	3,09 ±0,005
T4	3,82±0,04	3,82 ±0,01	3,76 ± 0,02	3,53 ± 0,02
T5	4,06±0,03	3,92 ±0,02	3,38 ± 0,02	3,18 ±0,03
T6	4,08±0,02	3,96 ±0,01	3,12 ± 0,03	3,02 ± 0,01
T7	3,81±0,01	3,71 ±0,01	3,67 ±0,02	3,47 ±0,02
T8	3,80±0,02	3,11 ±0,04	3,96 ±0,01	2,98 ±0,02

Figura 10

Comparación de la disminución del pH evaluadas en 1,7,14 y 21 días



T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
H-y:5%	H-y:4,9%	H-mn: 5%	H-mn:4,9%	H-mn:1,2%	H-mn :1,2%	H-mn:3,7%	H-mn:3,7%
	H-e:0,1%		H-e: 0,1%	H-y :3,7%	H-y : 3,7%	H-y :1,2%	H-y :1,2%
				H-e: 0,03%	H-e : 0,1%	H-e :0,03%	H-e :0,1%

H-y: Harina de yacón **H-mn:** Harina de mashua negra **H-e:** Harina de espirulina

El pH para los tratamientos evaluados durante los 21 días, según el análisis de varianza (ANOVA) indica que hay una diferencia significativa entre los días evaluados, además la prueba de Tukey ($p < 0,05$) muestra que los valores de pH disminuyen significativamente después del día 1 y se estabiliza entre los días 14 y 21 como se muestra en el anexo 10.

Los valores obtenidos durante la evaluación presentaron valores mínimos como el T8 con 2,98 y un valor máximo de 4,09 en el T2, esta disminución de pH lo destaca (Prieto, 2022) resaltando la importancia del pH en una bebida fermentada con kéfir de agua ya que este desempeña un papel importante en el crecimiento y el metabolismo de los microorganismos presentes en los nódulos de kéfir de agua, dando alcances que el pH óptimo debe ser valores inferiores a 4,6 para que el consumo sea más seguro. Como se destaca estos valores obtenidos están por debajo de 4,0 a excepción del T8 que presentó un valor muy bajo evidenciando alta acidez lo que implica que la bebida tiene un sabor fuerte. El descenso del pH en el kéfir de agua es un indicador clave de que la fermentación está ocurriendo correctamente, esto sucede debido a la actividad de

bacterias y levaduras que producen ácidos orgánicos. El pH baja progresivamente, y este cambio afecta el sabor, haciéndolo más ácido y menos dulce con el tiempo.

4.4. Análisis microbiológico

4.4.1. Bacterias ácido lácticas (UFC/ml)

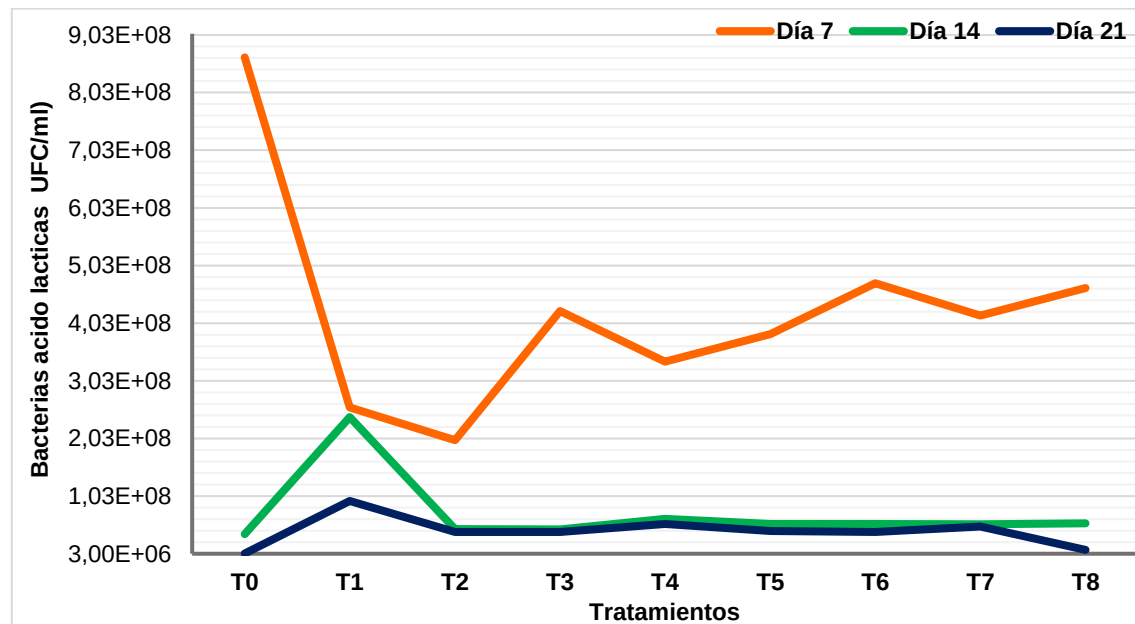
Tabla 22

Carga microbiana evaluadas en 7,14 y 21 días

N° Tratamiento	Días		
	7	14	21
T0	$8,64 \times 10^8$	$3,70 \times 10^7$	$3,40 \times 10^6$
T1	$2,57 \times 10^8$	$2,40 \times 10^8$	$9,45 \times 10^7$
T2	$2,00 \times 10^8$	$4,60 \times 10^7$	$4,07 \times 10^7$
T3	$4,24 \times 10^8$	$4,50 \times 10^7$	$4,09 \times 10^7$
T4	$3,36 \times 10^8$	$6,35 \times 10^7$	$5,47 \times 10^7$
T5	$3,84 \times 10^8$	$5,45 \times 10^7$	$4,25 \times 10^7$
T6	$4,72 \times 10^8$	$5,45 \times 10^7$	$4,10 \times 10^7$
T7	$4,16 \times 10^8$	$5,40 \times 10^7$	$5,00 \times 10^7$
T8	$4,64 \times 10^8$	$5,60 \times 10^7$	$9,50 \times 10^6$

Figura 11

Comparación de disminución de carga microbiana UFC/ml



T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
H-y:5%	H-y:4,9%	H-mn: 5%	H-mn:4,9%	H-mn:1,2%	H-mn :1,2%	H-mn:3,7%	H-mn:3,7%
	H-e:0,1%		H-e: 0,1%	H-y :3,7%	H-y : 3,7%	H-y :1,2%	H-y :1,2%
				H-e: 0,03%	H-e : 0,1%	H-e :0,03%	H-e :0,1%
H-y: Harina de yacón			H-mn: Harina de mashua negra		H-e: Harina de espirulina		

De acuerdo a los resultados para las bacterias ácido lácticas determinadas según el recuento, se evidenció que en el día 7 se registró una mayor cantidad en el recuento de bacterias ácido lácticas en todos los tratamientos, destacando especialmente en los T0 ($8,64 \times 10^8$ UFC/ml) y T6 ($4,72 \times 10^8$ UFC/ml). Este incremento sugiere que las condiciones del medio de cultivo fueron óptimas para el crecimiento de estas bacterias durante esta fase de la fermentación, en el día 14 se determinó que el T1 ($2,40 \times 10^8$ UFC/ml) mostró una ligera inhibición en el recuento de bacterias ácido lácticas a diferencias de los demás tratamientos, en el día 21 se determinó que los valores en todos los tratamientos tuvieron una reducción, pero el T0 ($3,40 \times 10^6$) y T8 ($9,50 \times 10^6$) obtuvieron valores más bajos, esta notable reducción sugiere que estos tratamientos pueden estar asociados con un entorno menos favorable para las bacterias ácido lácticas a medida que avanza la fermentación. Además se destaca que el T1 mostró valores estables hasta los 21 días. Estos resultados se asemejan a los obtenidos por (Quinatoa, 2023) quien realizó inoculaciones con diferentes concentraciones de sustratos de oca (0,10,20 y 30%) con 6% de panela, 6% de pulpa de uvilla y 15% de granos de kéfir, durante 72 horas de fermentación obteniendo una concentración de bacterias ácido lácticas con $1,5 \times 10^7$ UFC/ml en concentración de 30% de oca superando los mínimos permitidos para bebidas probióticas, por otro lado también se tiene a (Tamiris et al., 2021) que realizó un estudio a cerca de la fermentación del kéfir de agua con extractos vegetales (almendras, arroz, avena, nuez de Brasil, coco y soja) extraídos solo los compuestos hidrosolubles en agua en proporción de 10% (m/m) y 5% (m/v) de granos de kéfir a temperatura ambiente y 24 horas de fermentación, obteniendo que todas las formulaciones superaron en 10^6 UFC/ml en bacterias ácido lácticas demostrando así que es factible obtener bebidas probióticas a partir de extractos vegetales. Todos estos microorganismos tienen la capacidad de ser probióticos ya que el kéfir es una bebida creada por la combinación de una variedad de especies microbianas en la que la mayor parte se encuentra en el kéfir. (Cai et al., 2020).

La microbiota de los granos de kéfir puede variar según la proporción de los granos de kéfir, el tiempo, la temperatura y el tipo de sustrato utilizado para fermentar (que están relacionados con el origen geográfico y, por ende, con las condiciones climáticas) (Garofalo et al., 2020). Cabe destacar que los resultados obtenidos en todos los tratamientos para recuento de bacterias ácido lácticas se ubican por encima del rango mínimo (1×10^7) para ser considerado bebida probiótica según (CODEX STAN 243-2003, 2022).

4.4.2. Mohos

Como producto de la fermentación del kéfir de agua con mashua negra, yacón y espirulina se realizó el análisis microbiológico para mohos en cada tratamiento resultando que ninguno presentó indicios de mohos en las placas Petri sembradas, cada proceso fermentativo se llevó a cabo en condiciones higiénicas en manipulación y producción. Se cree que los mohos podrían ser el resultado de la contaminación externa durante la manipulación o almacenamiento del kéfir de agua o sustratos, sin embargo, los mohos no son microbianos naturales del kéfir, se pueden encontrar en otros alimentos y productos fermentados mediante el uso de algunos granos y frutas. (Málaga, 2018)

4.4.3. Coliformes totales

De acuerdo a las evaluaciones realizadas en cada tratamiento se obtuvo como resultado ausencia de coliformes totales en la bebida fermentada por lo que se puede determinar que fueron elaboradas con los protocolos de higiene lo cual proporciona garantía en calidad sanitaria y consumo.

Las alteraciones por levaduras y mohos no son infrecuentes, los bacilos coliformes deben estar ausentes. También pueden elevar el pH, lo que permite el desarrollo de otros gérmenes menos ácido tolerantes. (Machaca, 2021)

4.5. Análisis sensorial de la bebida fermentada

Como resultado de la evaluación de 30 jueces no entrenados con edades de entre 20 y 50 años con escala de evaluación de 1 (Muy malo) a 5 (Muy bueno) con atributos de olor, color y sabor se tienen las siguientes apreciaciones.

Tabla 23

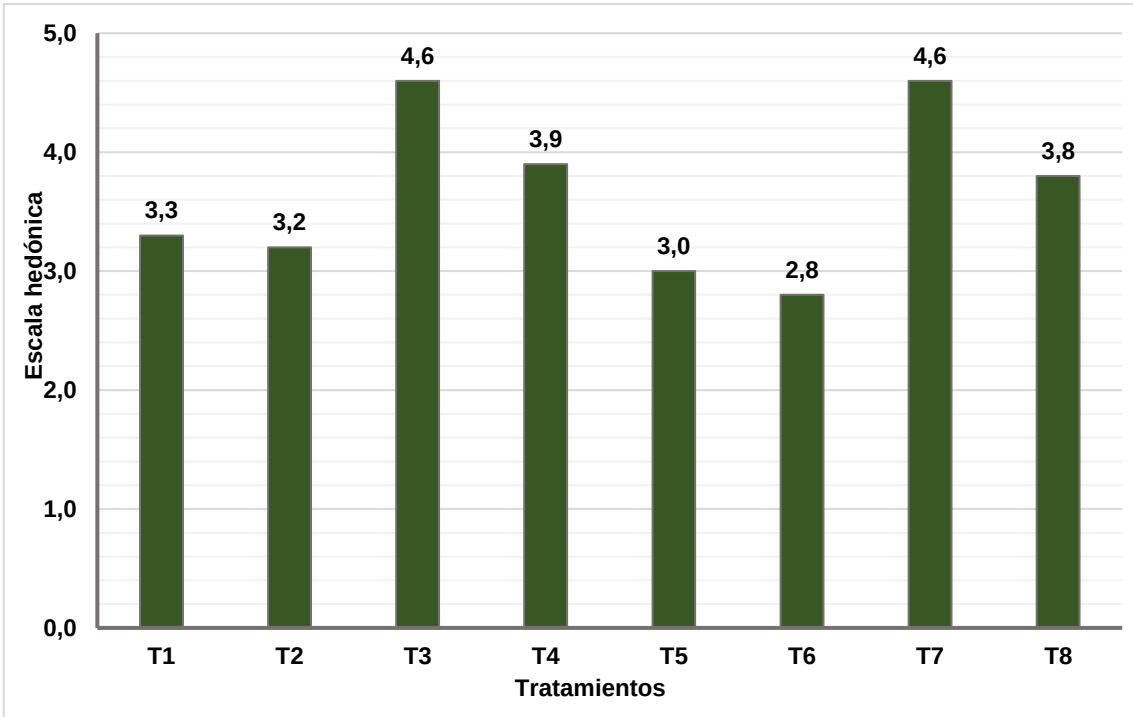
Resultado de las evaluaciones sensoriales

Tratamientos	Olor		Color		Sabor	
T1	3,3	Regular	3,8	Bueno	3,6	Bueno
T2	3,2	Regular	3,0	Bueno	3,2	Regular
T3	4,6	Muy bueno	4,7	Muy bueno	4,8	Muy bueno
T4	3,9	Bueno	4,3	Bueno	4,1	Bueno
T5	3,0	Regular	3,2	Regular	2,7	Regular
T6	2,8	Regular	3,4	Regular	2,4	Regular
T7	4,6	Muy bueno	4,7	Muy bueno	4,5	Muy bueno
T8	3,8	Bueno	4,1	Bueno	4,0	Bueno

4.5.1. Olor

Figura 12

Comparación de preferencias en olor de la bebida fermentada



T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
H-y:5%	H-y:4,9%	H-mn: 5%	H-mn:4,9%	H-mn:1,2%	H-mn :1,2%	H-mn:3,7%	H-mn:3,7%
	H-e:0,1%		H-e: 0,1%	H-y :3,7%	H-y : 3,7%	H-y :1,2%	H-y :1,2%
				H-e: 0,03%	H-e : 0,1%	H-e :0,03%	H-e :0,1%

H-y: Harina de yacón **H-mn:** Harina de mashua negra **H-e:** Harina de espirulina

El olor del kéfir de agua con sustratos según el análisis de varianza (ANOVA) indica que hay diferencias significativas entre sus valores, además la prueba de Tukey ($p < 0,05$) como se muestra en el anexo 11, se destaca con valores mayores de medias los T3 y T7 con mayor preferencia mientras que los T5 y T6 con valores de medias menores indicando menor preferencia según los evaluadores como se aprecia en la tabla 23.

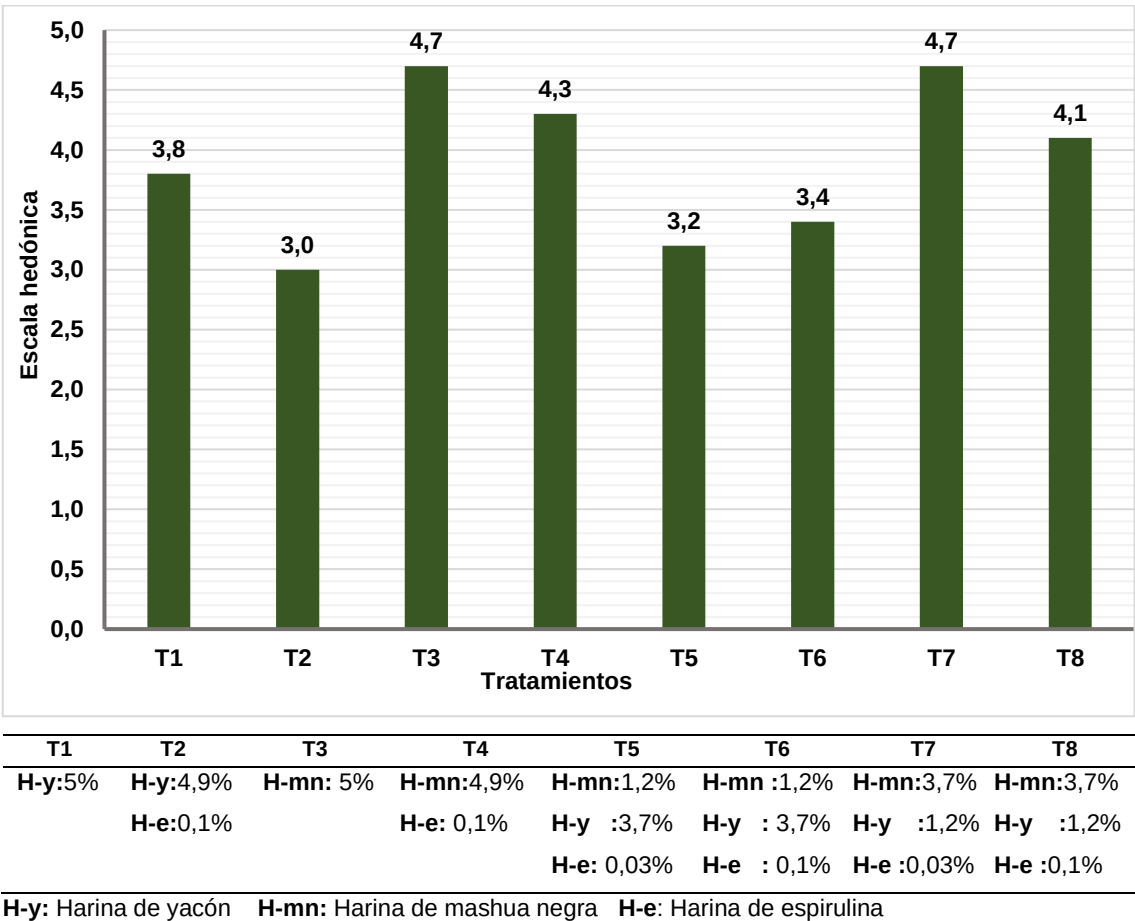
Cabe destacar que los T3 (4,6) y T7 (4,6) fueron con mayor preferencia según los evaluadores por predominar el olor con mayor concentración de sustrato de mashua negra. Durante la fermentación y la maduración, las levaduras *Saccharomyces* sp., *Kluyveromyces* sp., *Pichia* sp. y *Cándida* sp. producen los precursores del aroma de la bebida.(Moreno, 2022).El ácido láctico y el etanol fueron los principales metabolitos de la fermentación, en concentraciones bajas se produjeron manitol, glicerol y ácido acético. Durante las primeras 72 horas de fermentación, la mayor parte de estos metabolitos se produjeron con respecto al aroma del producto final, los compuestos

aromáticos volátiles más comunes fueron el acetato de etilo, el acetato de isoamilo, el hexanoato de etilo, el octanoato de etilo y el decanoato de etilo.(Laureys & Vuyst, 2014)

4.5.2. Color

Figura 13

Comparaciones de preferencia de color en la bebida fermentada

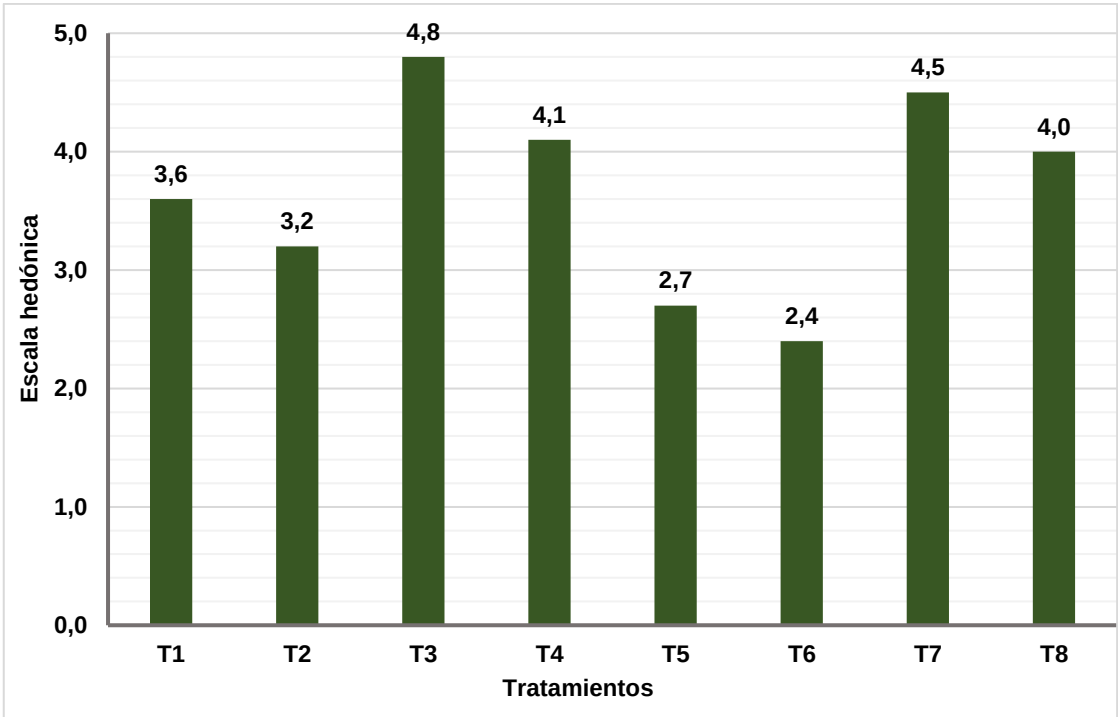


El color del kéfir de agua con sustratos según el análisis de varianza (ANOVA) indica que diferencias significativas entre sus valores, además la prueba de Tukey ($p < 0,05$) como se muestra en el anexo 12, se destaca que los T3 y T7 obtuvieron mayor valor según las comparaciones de sus medias, mientras que los T5 y T2 obtuvieron menores valores entre sus medias. Cabe destacar que los T3 (4,7) y T7 (4,7) obtuvieron mayores puntuaciones de preferencia además de contener mayor concentración de harina de mashua negra como sustrato en sus formulaciones. Según (Guzel-Seydim et al., 2021) demostró el impacto del proceso en el color después de la fermentación la disminución de la luminosidad en las muestras podrían explicarse por el proceso de pardeamiento durante la fermentación, cuando los ambientes no son completamente anaeróbicos, se activan oxidasas particulares, como el polifenol oxidasa.

4.5.3. Sabor

Figura 14

Comparaciones preferencia en sabor de la bebida fermentada



T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
H-y:5%	H-y:4,9%	H-mn: 5%	H-mn:4,9%	H-mn:1,2%	H-mn :1,2%	H-mn:3,7%	H-mn:3,7%
	H-e:0,1%		H-e: 0,1%	H-y :3,7%	H-y : 3,7%	H-y :1,2%	H-y :1,2%
				H-e: 0,03%	H-e : 0,1%	H-e :0,03%	H-e :0,1%

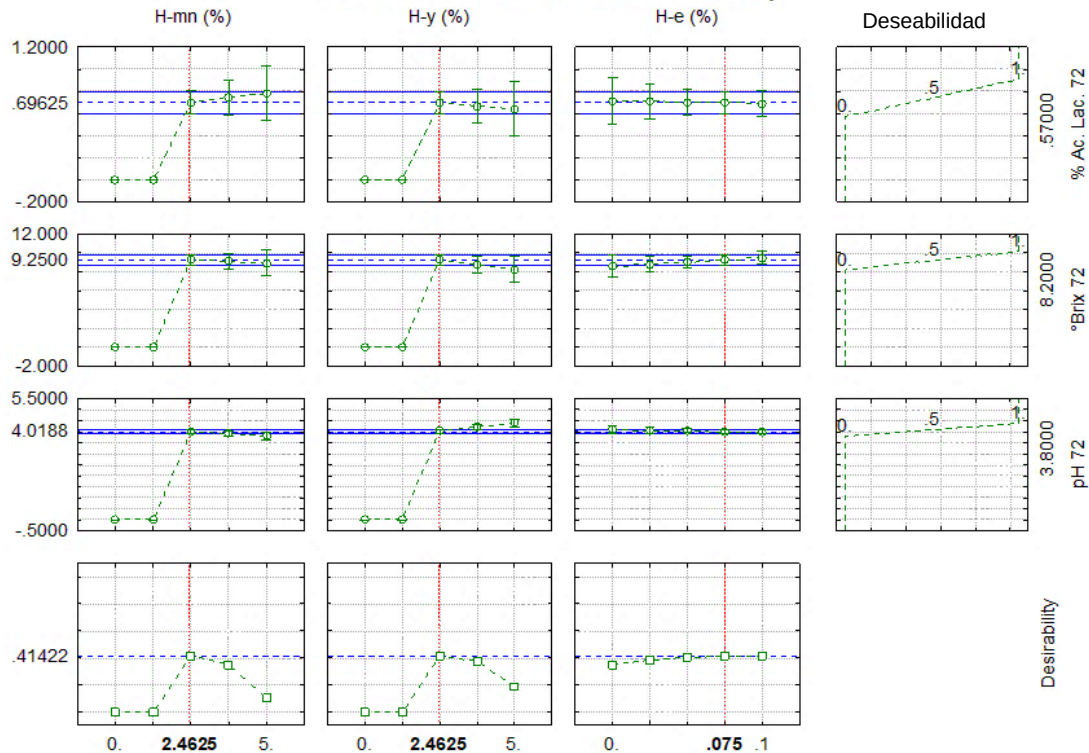
H-y: Harina de yacón **H-mn:** Harina de mashua negra **H-e:** Harina de espirulina

Los resultados para el sabor del kéfir de agua con sustratos según el análisis de varianza (ANOVA) presentó diferencias significativas ($p < 0,05$) entre sus valores como se muestra en el anexo 13, teniendo con valor mayor en sus medias los T3 y T7 mientras que los T5 y T6 con menor valor en sus medias lo que indicaría menor preferencia según los evaluadores. Cabe destacar que los T3 (4,8) y T7 (4,5) con mayor preferencia predominan la harina de mashua negra como sustratos en sus formulaciones resaltando su sabor peculiar y muy agradable según los evaluadores. Según (Ruiz et al., 2015) evaluó diferentes formulaciones de kéfir de agua con arándano de proporciones 1:1;1:2 y 1:3 con fermentaciones de 12 y 24 horas concluyendo que la mayor preferencia de parte de los panelistas fue de la fermentación de 24 horas con proporciones de 1:2 debido al sabor más ácido que presentó lo cual está relacionado con el mayor tiempo de fermentación que es característico de una fermentación del kéfir de agua. Además (Sánchez et al., 2022).

4.6. Diseño de optimización de proporciones de mashua negra, yacón y espirulina.

Figura 15

Gráfico de optimización de sustratos de mashua negra, yacón y espirulina



H-mn: Harina de mashua negra **H-y:** Harina de yacón **H-e:** Harina de espirulina

Línea azul horizontal: Representa el valor objetivo deseado para cada variable de respuesta.

Línea roja vertical: Indica las proporciones óptimas de cada sustrato según el modelo.

Los puntos verdes: Muestran los valores experimentales insertados en el modelo y las líneas representan las predicciones del modelo cuadrático ajustado.

Según el gráfico mostrado que proviene de un diseño óptimo de experimentos (DOE) con modelo cuadrático determinaron una optimización que muestra valores para cada sustrato, tomado como base resultados experimentales para % ácido láctico, °Brix y pH a las 72 horas de fermentación esto debido a que, los valores para bacterias ácido lácticas analizadas a los 7 días después de la fermentación (F1), mostraron mayor producción (10^8 UFC/ml) por ello se tomó valores mínimos (Deseabilidad) para cada medición. Según la figura mostrada al utilizar 2.4625% de harina de mashua negra y 2,4625% de harina de yacón con harina de espirulina al 0,075% se obtiene ácido láctico predicho de 0.69625% con °Brix 9,25 y un pH de 4,02 óptimos para mejores resultados. Sin embargo, según los cuadros deseabilidad con escala de 0 a 1 ninguna de las variables ha alcanzado una deseabilidad cercana a 1,0 lo que implica que existe margen para continuar mejorando las proporciones o ajustar el tiempo de fermentación para obtener un producto más equilibrado.

CONCLUSIONES

- De acuerdo a los resultados de las evaluaciones fisicoquímicas se estableció que el tratamiento T4 (harina de mashua negra 4,9% + harina de espirulina 0,1%) obtuvo mejores resultados para ácido láctico con 1,1%; sólidos solubles °Brix con 8,2 y pH con 3,53 mostrando estabilidad en el kéfir de agua.
- En todos los tratamientos evaluados mostró un desarrollo significativo de bacterias ácido lácticas (BAL) en el kéfir de agua por influencia de sustratos de mashua negra, yacón y espirulina; sin embargo, el tratamiento T1(harina de yacón 5%) se destacó por su estabilidad y mayor concentración con $9,45 \times 10^7$ UFC/ml. Esto sugiere que esta proporción no solo favorece un ambiente óptimo para el crecimiento sino también para la funcionalidad de las BAL, evidenciada en su capacidad de aportar beneficios probióticos y metabólicos durante la fermentación.
- De acuerdo a los resultados de la evaluación sensorial con atributos de olor, color y sabor, los tratamientos T3(harina de mashua negra 5%) y T7(harina de mashua negra 3,7% + harina de yacón 1,2% +harina de espirulina 0,1%) obtuvieron mayor preferencia de parte de los evaluadores destacando el sabor peculiar y agradable de la mashua negra con kéfir de agua.
- Se determinó que las proporciones de harina de mashua negra (2,4625%), harina de yacón (2,4625%) y harina de espirulina (0,075%) optimiza parcialmente en las características fisicoquímicas del kéfir de agua logrando una producción de 0,69625% ácido láctico;9,25 °Brix y un pH de 4,0188.

RECOMENDACIONES

- Promover el consumo del kéfir de agua destacando sus propiedades probióticas y los beneficios asociados a la salud.
- Desarrollar investigaciones con variedad de sustratos para promover la innovación en la producción del kéfir de agua.
- Realizar investigaciones enfocadas en la prolongación del tiempo de vida útil del kéfir de agua con la incorporación de diversos sustratos.
- Se recomienda el consumo del kéfir de agua para personas intolerantes a la lactosa debido a que se utiliza agua azucarada como base para la fermentación, en lugar de leche. Por lo tanto, no contiene lactosa ni caseína componentes que causan molestias a las personas que sufren estos síntomas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar, M., García, N., Gómez, J., Sosa, M., & Cerón, A. (2019). Atributos de calidad en diferentes bebidas a base de té: Caracterización fisicoquímica y colorimétrica. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 4. <http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume4/4/10/131.pdf>
- Alagón, J. (2024). *Capacidad probiótica de los microorganismos en la chicha de Schinus molle "molle"* [Tesis pregrado, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga]. Repositorio UNSCH. <https://repositorio.unsch.edu.pe/items/306b108f-6cc4-4cc2-ae51-9128e86c48a7>
- Álvarez, R., González, H. R., & Montenegro, A. C. (2019). Extracción y determinación del contenido de Fructanos del tipo inulina del yacón (*Smallanthus sonchifolius*): Esquema tecnológico para su producción industrial. *Tecnología Química*, 39, 37-48.
- Anchivilca, E., & Navarro, J. (2022). *Elaboración de una bebida a base de castaña (Bertholletia excelsa) y yacón (Smallanthus sonchifolius Poepp & Endl), mediante operaciones fisicoquímicas a nivel experimental* [Tesis pregrado, Universidad Nacional del callao]. <https://repositorio.unac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12952/7338/FIQ%20TESIS%20-Anchivilca%20Zavaleta-Navarro%20Ipanaque%202022.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Arteaga, D., Chacón, L., Samamé, V., Valverde, D., & Paucar, L. (2022). Mashua (*tropaeolum tuberosum*): Composición nutricional, características químicas, compuestos bioactivos y propiedades beneficiosas para la salud. *Agroind. sci.*, 12(1), 95-101.
- Azizi, N., Kumar, M., Yeap, S., Abdullah, J., Khalid, M., Omar, A., Osman, M., Mortadza, S., & Alitheen, N. (2021). Kéfir y sus actividades biológicas. *Kefir and Its Biological Activities. Foods*, 19(6), 1210. <https://doi.org/10.3390/foods10061210>
- Beltrán, M. (2016). Alimentos funcionales. *Farmacia Profesional*, 30(3), 12-14. <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-alimentos-funcionales-X0213932416546681>
- Berzero, M. (2015). *Ingredientes básicos de la gastronomía «El azúcar»* [Tesis pregrado]. Instituto superior N° 4044 «Sol».
- Bohórquez, S. (2017). *Efecto de la espirulina en el manejo de las alteraciones metabólicas relacionadas a la obesidad: Revisión sistemática* [Tesis pregrado, Universidad San Ignacio de Loyola]. Tesis de Magíster en Gestión de Negocios de Nutrición. <https://hdl.handle.net/20.500.14005/2711>
- Bozkir, E., Yilmaz, B., Sharma, H., Esatbeyoglu, T., & Ozogul, F. (2024). Challenges in water kefir production and limitations in human consumption: A comprehensive review of current knowledge. *Heliyon*, 10(13). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e33501>

- Buranelo, M., Dos santos, D., Ferreira, J., Bueno, I., Goncalves, J., & Pereira, K. (2022). Características Físicoquímicas y Reológicas y propiedades de la Leche de Soja Fermentada con Kéfir. *Investigación de biointerfaces en química aplicada*, 13(2), 3-8.
- Burgess, A., & Glasauer, P. (2006). *Guía de nutrición de la familia* (Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación).
- Bush, L. (2022). Introducción a las bacterias. *Charles E. Schmidt College of Medicine*. <https://www.msmanuals.com/es-pe/hogar/infecciones/infecciones-bacterianas-introducci%C3%B3n/introducci%C3%B3n-a-las-bacterias>
- Cai, Y., Sounderrajan, A., & Serventi, L. (2020). *Kéfir de agua: Una revisión de su perfil microbiológico, potencial antioxidante y calidad sensoria*. <https://doi.org/10.2582/2582-1423>
- Caiza, L. (2019). *Elaboración de una Bebida Fermentada a partir de Lactosuero y Leche de Chocho (lupinus mutabilis sweet) utilizando al Kéfir de Agua como Fermento* [Tesis pregrado, Universidad Técnica de Cotopaxi (UTC)]. Repositorio Universidad Técnica de Cotopaxi. <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/6152>
- Camasita, R., & Ocros, K. (2023). *Perfil fitoquímico de compuestos bioactivos y efecto citotóxico de tubérculo de Tropaeolum tuberosum Ruiz & Pavón (Mashua negra) en células meristemáticas de Allium cepa L.* [Tesis pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/backend/api/core/bitstreams/9aed702e-2e1a-4066-9b0f-3b3cca71dc98/content>
- Carbonero, P. (1975). *Bioquímica de las fermentaciones* (Recurso Educativo/Docente). 2020.
- Caro, C., & León, Á. (2015). Capacidad antifúngica de sobrenadantes libres de células obtenidos de la fermentación de un sustrato de “panela” con gránulos de kefir de agua. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 17(2), 22-32. <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/66721/42758-270745-1-PB.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Carriel, G., Montoya, S., Ponce, G., & Palma, J. (2023). Uso de la mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* ruíz & pavón) como colorante: Una revisión. *InvestiGO*, 4, .27-33.
- Castro, A. (2017). *Sustrato de fermentación de la guayaba* [Tesis pregrado, Instituto Tecnológico Superior de Xalapa]. <https://www.diariodexalapa.com.mx/cultura/-991378.html>
- CODEx STAN 243-2003. (2022). *Norma para leche fermentada*. El peruano.
- Cronquist, A. (1981). *Un sistema integrado de clasificación de plantas con flores* (2 Ed.). Editorial Continental.
- Cufaoglu, G., & Erdinc, A. (2023). An alternative source of probiotics: Water kefir (Review Article). *Food Frontiers*, 4, 23. <https://doi.org/10.1002/fft2.200>

- El Comercio (Director). (2019, noviembre 4). *Millones de peruanos sufren de intolerancia a la lactosa* [Broadcast]. <https://elcomercio.pe/publiirreportaje/millones-peruanos-sufren-intolerancia-lactosa-noticia-624669-noticia/?ref=ecr>
- Esatbeyoglu, T., Fischer, A., Leggler, A., Oner, M., Wolken, H., Köpsel, M., Ozogum, Y., Özyurt, G., De Biase, D., & Ozogul, F. (2023). Physical, chemical, and sensory properties of water kefir produced from Aronia melanocarpa juice and pomace. *Food Chemistry: X*, 18. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100683>
- Espinosa, J. (2007). *Evaluación sensorial de los alimentos* (Editorial Universitaria).
- Fetta, X. (2017). *Aceptación sensorial de una bebida a partir de almendras dulces (Prunus dulcis)* [Tesis pregrado, Universidad Le Cordon Bleu]. <https://hdl.handle.net/20.500.14546/22>
- Fiorda, F. A., Pereira, G. V. de M., Thomaz-Soccol, V., Rakshit, S. K., Pagnoncelli, M. G. B., Vandenberghe, L. P. de S., & Soccol, C. R. (2017). Microbiological, biochemical, and functional aspects of sugary kefir fermentation—A review. *Food Microbiology*, 66, 86-95. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.04.004>
- García, F., Rodríguez, E., & Romero, G. (2022). *Determinación de las características nutricionales y fisicoquímicas de la harina de yacón (Smallanthus Sonchifolius) con fines de aceptabilidad* [Tesis pregrado, Universidad Nacional de Piura]. <https://repositorio.unp.edu.pe/server/api/core/bitstreams/c70872c3-9900-48d5-b939-ed201e46fb8a/content>
- Garofalo, C., Ferrocino, I., Reale, A., Sabbatini, R., Milanović, V., Alkić-Subašić, M., Boscaino, F., Aquilanti, L., Pasquini, M., Trombetta, M. F., Tavoletti, S., Coppola, R., Cocolin, L., Blesić, M., Sarić, Z., Clementi, F., & Osimani, A. (2020). Study of kefir drinks produced by backslopping method using kefir grains from Bosnia and Herzegovina: Microbial dynamics and volatilome profile. *Food Research International*, 137, 109369. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109369>
- Gómez, K. (2020). *Aplicación de spirulina en el desarrollo de alimentación humana y animal* [Tesis pregrado, Universidad politécnica de valencia]. <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/158039/G%c3%b3mez%20-%20Aplicaci%c3%b3n%20de%20Spirulina%20en%20el%20desarrollo%20de%20alimentaci%c3%b3n%20humana%20y%20animal.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- González, N. (2021). *“Evaluación del efecto prebiótico del extracto de yacón (Smallanthus sonchifolius) en la viabilidad de Lactobacillus sp bajo condiciones gastrointestinales humanas simuladas in vitro”* [Tesis pregrado, Universidad Nacional del Santa]. <https://repositorio.uns.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14278/3737/52261.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Graham, K. (2022). Fermentación de Vinagre y Ácido acético. *LibreTexts español*. https://espanol.libretexts.org/Quimica/Qu%C3%ADmica_Biol%C3%B3gica/Fermentaci%C3%B3n_en_Qu%C3%ADmica_de_Alimentos/01%3A_M%C3%B3dulos/1.06%3A_Fermentaci%C3%B3n_de_Vinagre_y_%C3%81cido_Ac%C3%A9tico

- Guamán, M. (2022). *Elaboración de kéfir de agua proteinizado con amaranto (Amaranthus caudatus L.) y saborizado con melocotón (Pronus persica)* [Tesis pregrado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. Repositorio institucional. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/19135>
- Gutiérrez, H., & De la vara, R. (2004). *Análisis y diseño de experimentos* (2da Ed.). McGraw Hill. https://gc.scalahed.com/recursos/files/r161r/w19537w/analisis_y_diseno_experimentos.pdf
- Guzel-Seydim, Z., Gokirmaklı, Ç., & Greene, A. (2021). Comparación del kéfir de leche y el kéfir de agua: Propiedades físicas, químicas, microbiológicas y funcionales. *Trends in Food Science & Technology*, 113, 42-53. <https://sci-hub.se/downloads/2021-05-31/26/guzel-seydim2021.pdf>
- Hidalgo, R. (2023). *Evaluación del kéfir de agua con tres sustratos edulcorantes y tres saborizantes naturales*. [Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. Tesis de pregrado. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/19091>
- ISO 15214:1998. (2021). *Microbiología de alimentos y piensos*. 1ra Ed.
- Jayabalan, R., Marimuthu, S., & Swaminathan, K. (2007). Changes in content of organic acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation. *Food Chemistry*, 102(1), 392-398. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.05.032>
- Jorge, F., & Ponce, H. (2016). *Determinación de la proporción óptima de harina de Mashua (Tropaeolum tuberosum) como sustrato parcial para la elaboración de pan integral—Huánuco* [Tesis pregrado, Universidad Nacional Hermilio Valdizán]. <https://repositorio.unheval.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13080/1247/TAI%200070%20J73.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Laurey, D., Aerts, M., Vandamme, P., & De Vuyst, L. (2018). El oxígeno y diversos nutrientes influyen en el proceso de fermentación del kéfir de agua. *Microbiología de los alimentos*, 73, 351-361. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.02.007>
- Laureys, D., & Vuyst, L. (2014). Microbial Species Diversity, Community Dynamics, and Metabolite Kinetics of Water Kefir Fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(8), 2564-2572. <https://doi.org/10.1128/AEM.03978-13>
- León, J. M., Coico, F. M., & Torres, O. G. (2009). *Fanerógamas del Perú: Taxonomía, utilidad y ecogeografía* (Consejo Nacional de Ciencia y tecnología). CONCYTEC. <https://books.google.com.pe/books?id=rrBqtWAAcAAJ>
- López, L. (2004). Población de muestra y muestreo. *Punto cero*. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1815-02762004000100012
- López, S., Mostacero, J., López, A., Gil, A., De la cruz, A., & Villena, L. (2021). Caracterización morfológica de plantas de Smallanthus sonchifolius(Poepp.) H. Rob. 1978 “yacón” a partir de rizóforos procedentes de Gran Chimú, Otuzco y Sánchez Carrión. *Revista de Investigación Científica REBIOL*, 41(1), 114-119.

- Lucero, P. (2015). *Efecto del uso de levaduras y concentración de °Brix en las características fisicoquímicas y sensoriales de vino de fresa con miel* [Tesis pregrado, Escuela Agrícola Panamericana]. <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/8c5bc078-f8fc-4424-a18d-eb891c624c35/content>
- Lynch, K. M., Wilkinson, S., Daenen, L., & Arendt, E. K. (2021). An update on water kefir: Microbiology, composition and production. *International Journal of Food Microbiology*, 345, 109128. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109128>
- Machaca, J. (2021). Determinación de coliformes totales en refrescos artesanales expedidos en las avenidas independencia y geyeneche de la ciudad de Arequipa, causantes de enfermedades transmitidas por alimentos. *Ñawparisun*, 3, 3.
- Málaga, S. (2018). Recuento de levadura y moho de muestras de kéfir de agua casero del norte de paraná. *Anais do III Congresso Paranaense de Microbiologia*.
- Malma, L. (2020). *Proceso homofermentativo de kéfir con bacterias probióticas típicas para prolongar su tiempo de vida útil* [Tesis pregrado, Universidad Nacional del callao]. UNAC-Institucional. <https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#2.04.00>
- Malpartida, R., Adama, J., Cajachagua, Y., & Rosales, M. (2022). Características fisicoquímicas, composición nutricional y compuestos bioactivos en tres variedades de Mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón): Una revisión. *Revista Tecnológica - Espol*, 34(2), 41-51. <http://www.rte.espol.edu.ec/index.php/tecnologica/article/view/891>
- Manrique, I., Hernann, M., & Bernnet, T. (2004). *Yacón*. Centro Internacional de la Papa (CIP). <https://core.ac.uk/download/pdf/48032371.pdf>
- Marinela, C., Robles, K., Colina, J., Prieto, D., Arismendi, R., & Montilla, B. (2017). Extracción de quitina utilizando ácido láctico. *Revista Bases de la Ciencia. e-ISSN 2588-0764*, 2, 1. https://doi.org/10.33936/rev_bas_de_la_ciencia.v2i2.891
- Martínez, J. (2014). *Libro electrónico de Bioquímica* (2ª Ed.). Departamento de Química. <https://libroelectronico.uaa.mx/presentacion.html>
- Masís, P. S. (2001). Alimentos funcionales: Análisis general acerca de las características químico—Nutricionales, desarrollo industrial y legislación alimentaria. *Revista Costarricense de Salud Pública*. http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-14292001000100005&lng=en&tlng=es.
- Miranda, T. (2017). *Kéfir de agua fermentada a partir de azúcar marrón orgánico o convencional añadido con Jabuticaba* [Tesis pregrado, Universidad Estatal de Londrina]. <https://repositorio.uel.br/srv-c0003-s01/api/core/bitstreams/d5d10e1d-0b63-4ce3-9c24-2dee646defeb/content>
- Montgomery, D. (2017). *Diseño y análisis de experimentos* (2da Ed.).

- Morales, L. (2014). *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* [Tesis pregrado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/3918/1/56T00513%20UDCTF C.pdf>
- Moreno, F. (2022). *Evaluación de diferentes niveles de pulpa de Cauje (Pouteria caimito) en una bebida funcional con Kéfir* [Tesis pregrado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/19143/1/27T00668.pdf>
- Moretti, A. F., Moure, M. C., Quiñoy, F., Esposito, F., Simonelli, N., Medrano, M., & León-Peláez, Á. (2022). Water kefir, a fermented beverage containing probiotic microorganisms: From ancient and artisanal manufacture to industrialized and regulated commercialization. *Future Foods*, 5, 100123. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2022.100123>
- Moyano, W., & Ochoa, K. (2023). *Aplicaciones de la espirulina-planta marina: Revisión panorámica* [Tesis pregrado, Universidad Técnica de Ambato]. <https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/38733/1/Ochoa%20Galarza%20Katherine%20Yolanda.pdf>
- Mucha, L., Chamorro, R., Oseda, M., & Alanía, R. (2020). Evaluación de procedimientos empleados para determinar la población y muestra en trabajos de investigación de posgrado. *Desafíos*, 12(1), 51. <https://doi.org/10.37711/desafios.2021.12.1.253>
- Nielsen, S. (2009). *Análisis y composición de los alimentos* (1ra Ed.). Acribia S.A.
- NTP 207.018:2011. (2016). *AZÚCAR. Determinación del pH por método directo*. (5a Edición).
- NTP203.072:1977. (2012). *PRODUCTOS ELABORADOS A PARTIR DE FRUTAS Y OTROS VEGETALES. Determinación de los sólidos solubles*.
- NTP205.037:2022. (2022). *CEREALES Y PRODUCTOS DERIVADOS HARINAS. Determinación del contenido de humedad*. (2ª Edición).
- Pacheco, S., Oliveira, L., Vinícius, K., Correa, V., & Quintao, L. (2023). Desarrollo y estabilidad fisicoquímica de una bebida fermentada y carbonatada utilizando jugo de uva y granos de kéfir de agua. *Editora Home Publishings*, 440-448.
- Paricanaza, D. (2022). *Evaluación de las características químicas, físicas, sensoriales, funcionales y vida útil de una bebida a base de quinua (Chenopodium quinoa Willd.) Y tarwi (Lupinus mutabilis Sweet)* [Tesis pregrado]. <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/20.500.14082/18404>
- Parisaca, K. (2023). *Obtención de harina de mashua (Tropaeolum tuberosum Ruiz & Pavón) para consumo humano en San Jerónimo*. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

- Patel, S. H., Tan, J. P., Börner, R. A., Zhang, S. J., Priour, S., Lima, A., Ngom-Bru, C., Cotter, P. D., & Duboux, S. (2022). A temporal view of the water kefir microbiota and flavour attributes. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 80, 103084. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2022.103084>
- Pendón, M., Bengoa, A., Iraporda, C., Medrano, M., Garrote, G., & Abraham, A. (2022). Water kefir: Factors affecting grain growth and health-promoting properties of the fermented beverage. *J Appl Microbiol. Journal of applied microbiology*, 133(1). <https://doi.org/10.1111/jam.15385>
- Polanco, M., & García, M. (2013). *Caracterización morfológica y molecular de materiales de yacón (Smallanthus sonchifolius Poep. & Endl) H. Robinson colectados en la ecorregión Eje Cafetero de Colombia* [Tesis posgrado, Universidad de Colombia]. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5344987>
- Prieto, L. (2022). ¿Cuál es el valor de pH óptimo de las bebidas fermentadas? [Kefirko]. <https://kefirko.es/blogs/guias-y-consejos/cual-es-el-valor-de-ph-optimo-de-las-bebidas-fermentadas#:~:text=Tiene%20que%20descender%20por%20debajo,da%20un%20sabor%20ligeramente%20%C3%A1cido.>
- Quinatoa, A. (2023). *Elaboración de kéfir de uvilla (Physalis peruviana) con diferentes niveles de oca (Oxalis tuberosa)* [Tesis pregrado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/21151/1/27T00701.pdf>
- Ramírez, C., & Vélez, J. (2016). Aislamiento, Caracterización y Selección de Bacterias Lácticas Autóctonas de Leche y Queso Fresco Artesanal de Cabra. *Información tecnológica*, 27(6). <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642016000600012>
- Ramos, C. (2020). Los alcances de una investigación. *CienciAmérica*, 9(3). <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7746475>
- Rodas, D. (2019). *Efecto del porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación en la elaboración de una bebida funcional* [Tesis pregrado, Universidad Nacional José María Arguedas]. Repositorio institucional. https://repositorio.unajma.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14168/572/Deysi_Tesis_Bachiller_2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Rodríguez, E. (2023). *Aislamiento e identificación de la microbiota cultivable del kéfir de agua* [Tesis pregrado, Universidad de León]. https://buleria.unileon.es/bitstream/handle/10612/17544/Aislamiento_identificaci%C3%B3n_microbiota_cultivable_k%C3%A9fir.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Rodríguez, M., Fernández, L., Díaz, M., Pérez, M., Corona, M., & Reynaldi, F. (2022). *Caracterización microbiológica y química del kéfir de agua :una fuente innovadora de probióticos potenciales para la nutrición de las abejas*. 3.
- Romero, G. (2010). *El proceso de elaboración de la caña de azúcar* [Tesis pregrado, Universidad nacional de trujillo].

<https://dspace.unitru.edu.pe/server/api/core/bitstreams/1ba74573-8b2e-4de8-9752-7d2e970740dc/content>

- Rueda, M., & Trinidad, R. (2020). *Influencia de la bromelina en la cáscara de piña (Ananas comisus) en el pretratamiento para inhibir el pardeamiento enzimático en el deshidratado de yacón (Smallanthus sonchifolius)* [Tesis pregrado]. <https://repositorio.unheval.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13080/6437/TAI00185R92.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Ruiz, M., Noriega, D., Fernández, R., Villavicencio, C., & Avilés, R. (2015). Elaboración de bebida fermentada tipo kéfir caucasiense a partir de la fruta vaccinium myrtillus (arándano). *Revista Ingeniería Química y Desarrollo*. https://sga.unemi.edu.ec/media/evidenciasiv/2018/02/20/articulo_20182201083.pdf
- Salazar, F., Gómez, R., & Cano, J. (2016). *El problema de carga de pallets en centros de distribución utilizando diseño de mezclas*. Espacios. <https://www.revistaespacios.com/a17v38n02/17380202.html>
- Sánchez, N., Erazo, F., & Almeyda, M. (2022). *Elaboración de jugo con tres diferentes frutas, adicionando el 50% de cultivo de hongos tibetanos* [Tesis pregrado, Escuela Superior Politécnica del Chimborazo]. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8331492>
- Seminario, J., Valderrama, M., & Manrique, I. (2003). *El yacón: Fundamentos para el aprovechamiento de un recurso promisorio*. Centro internacional de la papa (CIP).
- Shiang, T. (2005). *Fermentación de vinagre* [Tesis pregrado, Universidad Estatal de Luisiana y Facultad de agricultura y mecánica]. https://repository.lsu.edu/gradschool_theses/1225
- Stadie, J., Gultitz, A., Ehrmann, M. A., & Vogel, R. F. (2013). Metabolic activity and symbiotic interactions of lactic acid bacteria and yeasts isolated from water kefir. *Food Microbiology*, 35(2), 92-98. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.03.009>
- Strada, R., Pereira, M., Oliveira, Schneedor, J., Neima, S., & Evangelista, J. (2010). Perfil microbiano de preparaciones de muestra de kéfir: Granos in natura y suspensión liofilizada y fermentada. *Food Science and Technology*, 30(4), 1022. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612010000400029>
- Tamiris, M., Rodríguez, L., Deziderio, M., & Maldonado, R. (2021). Estudio de la fermentación de extractos vegetales usando kéfir de agua. *Universidade de Sao Paulo*.
- Tarazona, M. (2018). *La espirulina una oportunidad como alimento funcional*. <https://expeditiorepositorio.utadeo.edu.co/bitstream/handle/20.500.12010/8816/10439.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Taype, J. (2023). *Formulación de una bebida simbiótica funcional con granos de kéfir y jarabe de yacón* [Tesis pregrado, Universidad Nacional de Micaela Bastidas de Apurímac]. Repositorio institucional. <https://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/9474846>

- Teixeira, K., Melo, G., Campos, C., Dragone, G., & Freitas, R. (2011). Kéfir brasileño: Estructura, comunidades microbianas y composición química. *Departamento de Biología, Universidad de Federal de Lavras*, 42(2), 693-702. <https://doi.org/doi:10.1590/S1517-838220110002000034>
- Vitón, D., & Macías, M. (2016). Una breve revisión sobre el valor nutricional de la espirulina platensis (*Arthrospira platensis*) y su uso en la alimentación porcina. *Revista computarizada de producción porcina*, 23(1), 48. <http://repositorio.unf.edu.pe/handle/UNF/152>
- Yıldız, S., uheda Reisoglu, & Sevcan Aydin. (2024). Evaluación de la calidad funcional del kéfir de agua con Artículo original Biomasa de *Haematococcus pluvialis* y pigmento colorante astaxantina. *Revista Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos*, 59, 4326-4335. <https://doi.org/10.1111/ijfs.16975>

ANEXOS

ANEXO 1 Proceso de secado y obtención de harina de yacón y mashua negra

Figura 16

Pelado y deshidratado de yacón a 65°C por 24 horas



Figura 17

Hojuelas de yacón deshidratado



Figura 18

Deshidratado de mashua negra 65°C por 24 horas

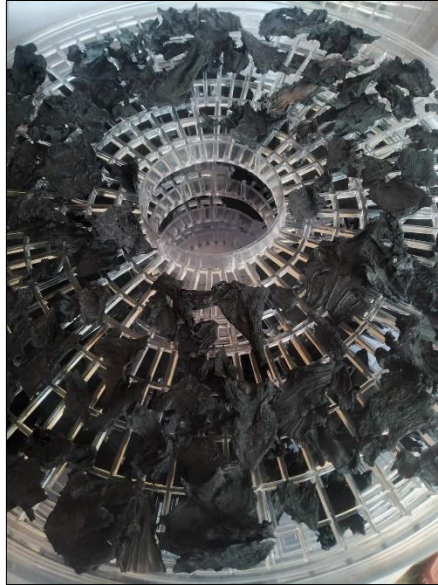


Figura 19

Harina de yacón, mashua negra y espirulina



Figura 20

Medición de humedad de harina de mashua negra y yacón



ANEXO 2 Proceso de elaboración del kéfir de agua con mashua negra, yacón y espirulina

Figura 21

Fermentación del cultivo patrón por 72 horas



Figura 22

Preparación y dilución con sacarosa (azúcar comercial)



Figura 23

Pesado de sustratos

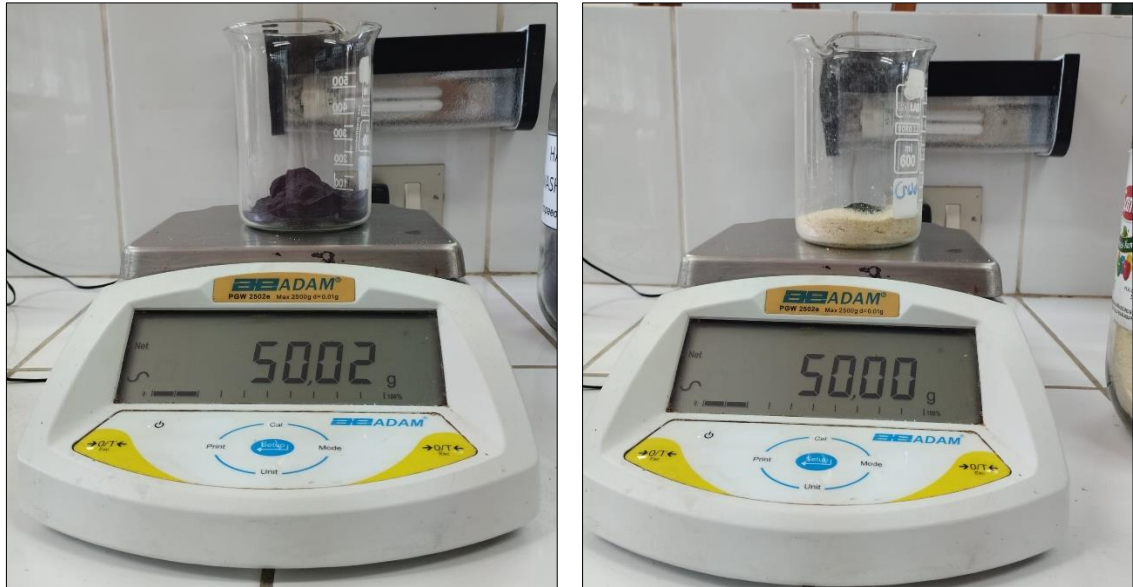


Figura 24

Pesado e inoculación de los granos de kéfir



Figura 25

Fermentado del kéfir de agua con sustratos



ANEXO 3 Determinación de acidez titulable, pH y °Brix del kéfir de agua con sustratos

Figura 26

Determinación de acidez por titulación

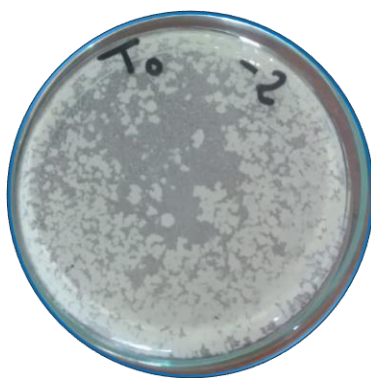


Figura 27

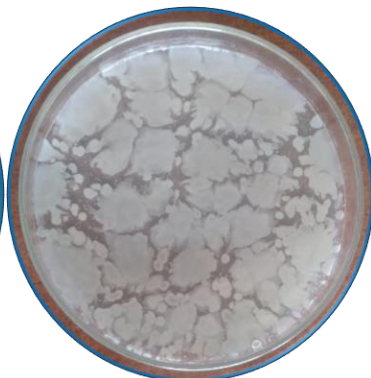
Medición de pH y °Brix del kéfir de agua



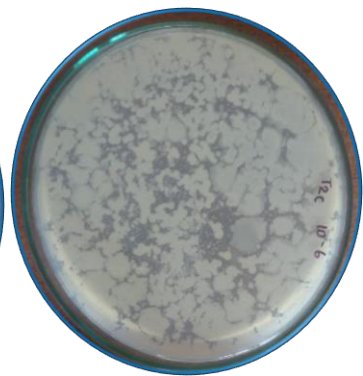
ANEXO 4 Recuento de bacterias ácido lácticas en placas Petri



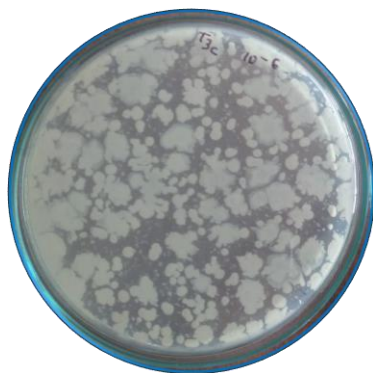
T0



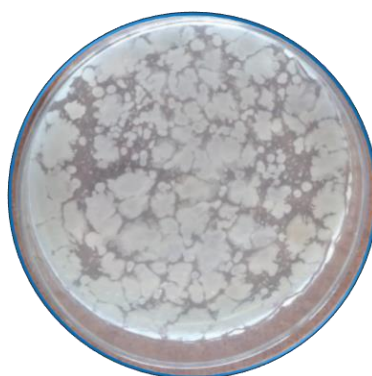
T1



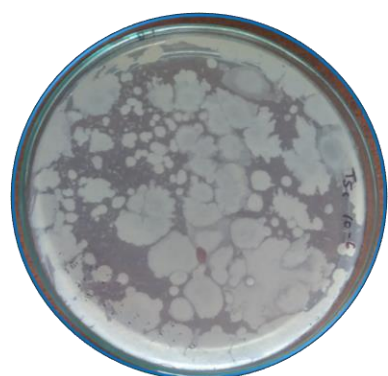
T2



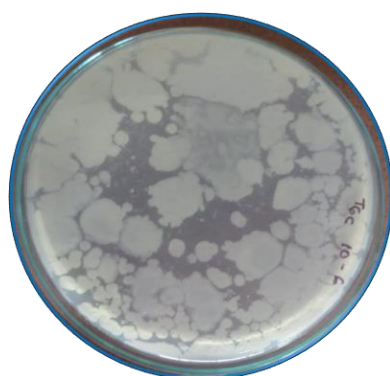
T3



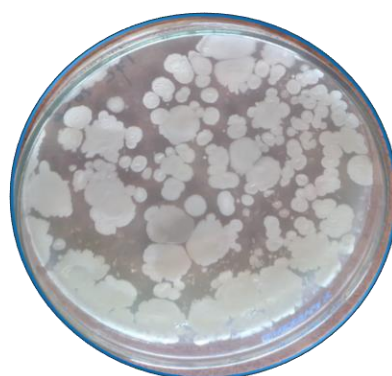
T4



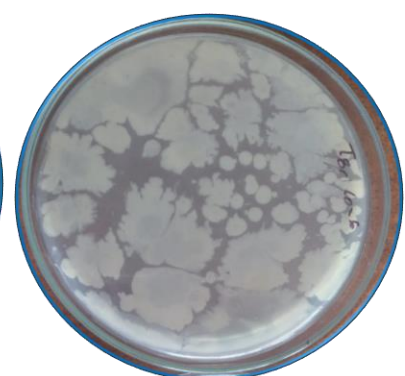
T5



T6



T7



T8

ANEXO 5 Degustación de los tratamientos del kéfir de agua con sustratos



ANEXO 6 Datos de la evaluación sensorial para olor, color y sabor del kéfir de agua

Ficha de evaluación de las características organolépticas para determinar el grado de aceptabilidad del kéfir de agua con sustratos

	UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTOBAL DE HUAMANGA FACULTAD DE INGENIERIA QUIMICA Y METALURGIA ESCUELA DE FORMACION PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL							
“TEST DE EVALUACIÓN DE LAS CARACTERISTICAS ORGANOLEPTICAS PARA DETERMINAR EL GRADO DE ACEPTABILIDAD DEL PRODUCTO”								
FICHA PARA EVALUADORES								
Nombre del evaluador..... Edad.....								
Fecha: .../.../ 2024								
Prueba: Aceptabilidad								
Muestra: Bebida fermentada a base de mashua negra, yacón y espirulina con cultivo de kéfir de agua								
Se le presenta ante usted 8 muestras para que deguste cuidadosamente el producto y por favor indique se grado de aceptabilidad en cuanto a apariencia, color, sabor, olor e impresión general en base a la siguiente escala.								
Excelente : 5 Muy bueno : 4 Bueno : 3 Regular : 2 Malo : 1								
Características a evaluar	Muestras							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Olor								
Color								
Sabor								
Observaciones.....								

Tabla 24

Resultados numéricos de la evaluación sensorial para olor del kéfir de agua con sustratos harina de mashua negra, yacón y espirulina

Degustador	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
1	3	3	3	4	2	2	5	4
2	4	3	4	4	4	2	5	5
3	2	3	4	5	3	2	4	4
4	2	3	5	3	3	2	4	4
5	2	3	4	2	3	3	4	4
6	4	4	4	5	2	2	2	4
7	4	4	5	4	4	4	4	4
8	5	4	4	4	4	5	4	5
9	4	4	4	3	4	3	5	3
10	4	4	4	4	3	4	5	4
11	2	3	4	4	2	3	4	4
12	3	4	5	5	4	4	3	4
13	3	3	5	5	3	2	5	4
14	3	4	5	4	3	4	4	4
15	3	3	4	2	2	3	5	4
16	3	2	5	4	2	2	5	2
17	3	4	5	3	3	2	5	3
18	3	2	5	2	4	3	5	4
19	3	2	5	2	3	5	5	3
20	3	2	5	4	2	2	5	4
21	2	3	5	5	3	3	5	3
22	4	3	5	4	4	2	5	5
23	3	2	5	4	2	2	5	4
24	4	5	5	5	2	4	5	4
25	5	4	5	5	3	2	5	4
26	3	4	5	3	3	3	5	4
27	3	2	4	5	3	2	5	3
28	4	3	4	4	2	2	4	3
29	5	4	5	4	2	2	5	4
30	3	3	5	4	5	3	5	4
Promedio	3,3	3,2	4,6	3,9	3,0	2,8	4,6	3,8

Tabla 25

Resultados numéricos de la evaluación sensorial para color del kéfir de agua con sustratos harina de mashua negra, yacón y espirulina

Degustador	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
1	5	2	4	4	2	2	5	4
2	4	4	5	5	4	4	5	5
3	4	2	5	5	4	4	5	4
4	5	2	5	5	4	4	4	4
5	3	3	5	3	4	4	4	4
6	4	5	5	5	3	2	5	4
7	5	4	5	4	5	4	5	5
8	4	5	4	5	5	5	5	5
9	3	3	4	4	4	4	4	4
10	4	3	5	5	3	4	5	5
11	4	4	4	5	3	4	4	4
12	4	3	5	5	4	4	4	4
13	4	3	5	5	3	3	4	4
14	3	3	4	4	4	4	4	4
15	4	1	5	5	3	3	5	2
16	3	1	5	3	3	2	5	2
17	2	2	5	4	2	3	4	3
18	4	2	5	4	2	4	5	5
19	5	3	4	3	5	5	5	5
20	3	3	5	4	3	3	5	5
21	3	2	5	4	4	3	5	4
22	4	4	5	5	4	4	5	5
23	3	2	4	5	2	2	5	4
24	5	4	5	5	2	4	5	4
25	5	4	5	5	3	2	5	4
26	3	2	5	5	2	2	5	4
27	4	3	5	4	2	3	5	4
28	4	4	4	4	2	3	4	4
29	4	4	5	3	2	3	5	4
30	3	3	5	3	4	4	5	4
Promedio	3,8	3,0	4,7	4,3	3,2	3,4	4,7	4,1

Tabla 26

Resultados numéricos de la evaluación sensorial para sabor del kéfir de agua con sustratos harina de mashua negra, yacón y espirulina

Degustador	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
1	5	3	5	5	2	2	5	4
2	4	3	5	4	4	2	5	5
3	2	4	5	5	3	3	5	3
4	2	2	4	2	2	3	5	3
5	3	3	4	2	2	3	5	4
6	4	4	5	5	4	2	5	4
7	3	5	4	4	4	4	4	4
8	4	4	5	4	4	4	5	5
9	4	5	5	3	3	2	4	4
10	4	3	5	5	4	3	5	4
11	3	3	4	5	3	4	5	3
12	5	3	5	5	3	2	3	4
13	3	3	5	5	3	2	4	5
14	2	4	5	3	3	3	4	3
15	2	1	5	3	1	1	4	4
16	2	3	5	4	2	1	2	3
17	4	4	5	2	2	2	5	2
18	5	2	5	4	3	3	5	4
19	4	3	5	5	3	4	5	5
20	3	2	5	5	2	2	4	5
21	3	2	4	3	3	2	5	4
22	4	3	4	4	4	2	5	5
23	5	3	4	5	3	2	5	4
24	4	5	5	4	2	4	5	4
25	5	4	5	5	2	2	4	4
26	4	4	5	3	2	2	5	4
27	4	2	5	5	3	1	5	4
28	3	2	5	3	1	1	4	4
29	5	4	5	5	2	1	4	4
30	3	3	5	5	3	3	5	4
Promedio	3,6	3,2	4,8	4,1	2,7	2,4	4,5	4,0

**ANEXO 7 Análisis de varianza y prueba de Tukey de producción de ácido láctico
%, pH, °Brix de tiempo inicial y a las 72 horas**

Método	
Hipótesis nula	Todas las medias son iguales
Hipótesis alterna	No todas las medias son iguales
Nivel de significancia	$\alpha = 0,05$

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor (F1)	5	1292,62	258,525	2331,21	0,000
Error	42	4,66	0,111		
Total	47	1297,28			

Desv. Est. agrupada=0,33301

Resumen del modelo

S	R-cuadrado	R-cuadrado(ajustado)	R-cuadrado(pred)
0.333013	99.64%	99.60%	99.53%

Comparaciones en pruebas de Tukey

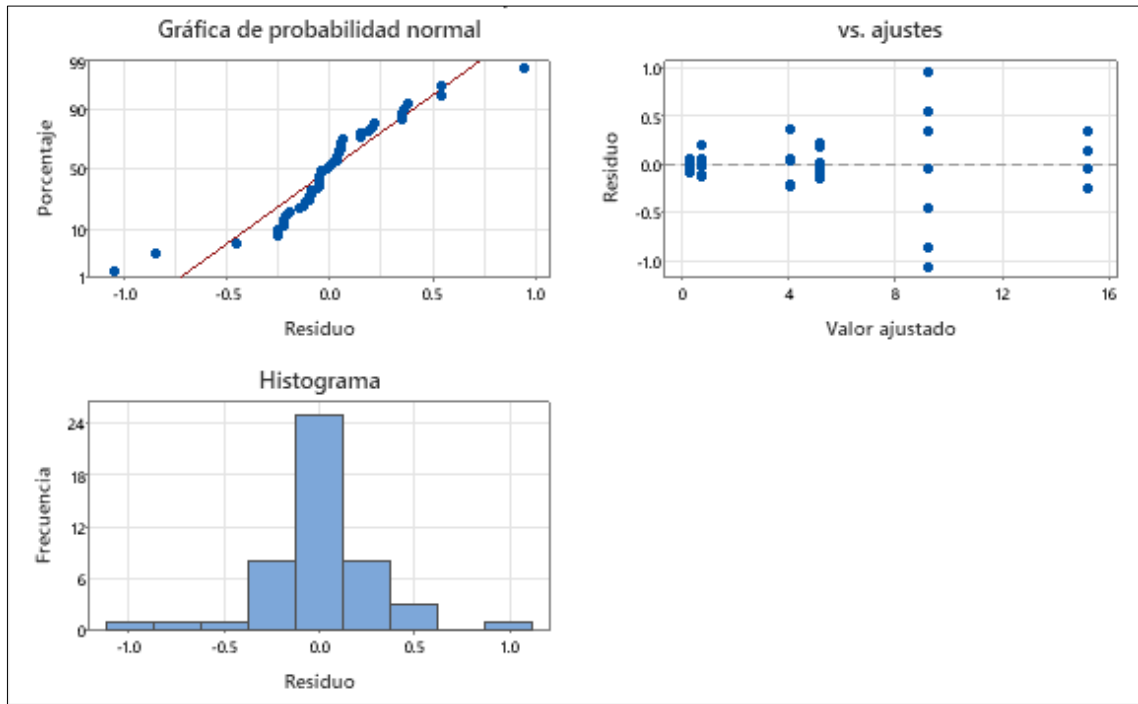
Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95 %

Factor	N	Media	Agrupación
°Brix 0	8	15,2500	A
°Brix 72	8	9,250	B
pH 0	8	5,1638	C
pH 72	8	4,0187	D
% Ac. lact. 72	8	0,6962	E
% Ac. lact.0	8	0,2546	E

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Figura 28

Gráficas de Residuos para la Validación del Modelo de Regresión de % Ac. Láctico, °Brix y pH



- Normalidad de los residuos: Cumplido, aunque se observen ligeras desviaciones en los extremos.
- Homocedasticidad: Cumplido en términos generales, con una menor dispersión en algunos rangos
- Independencia de los errores: Cumplido, puesto que no se observa un patrón claro en los residuos vs. Ajustes.

ANEXO 8 Análisis de varianza en la producción de ácido láctico % evaluadas en 1,7,14 y 21 días.

Método	
Hipótesis nula	Todas las medias son iguales
Hipótesis alterna	No todas las medias son iguales
Nivel de significancia	$\alpha = 0,05$

Resumen del modelo

S	R-cuadrado	R-cuadrado(ajustado)	R-cuadrado (pred)
0.116468	12.64%	3.28%	0.00%

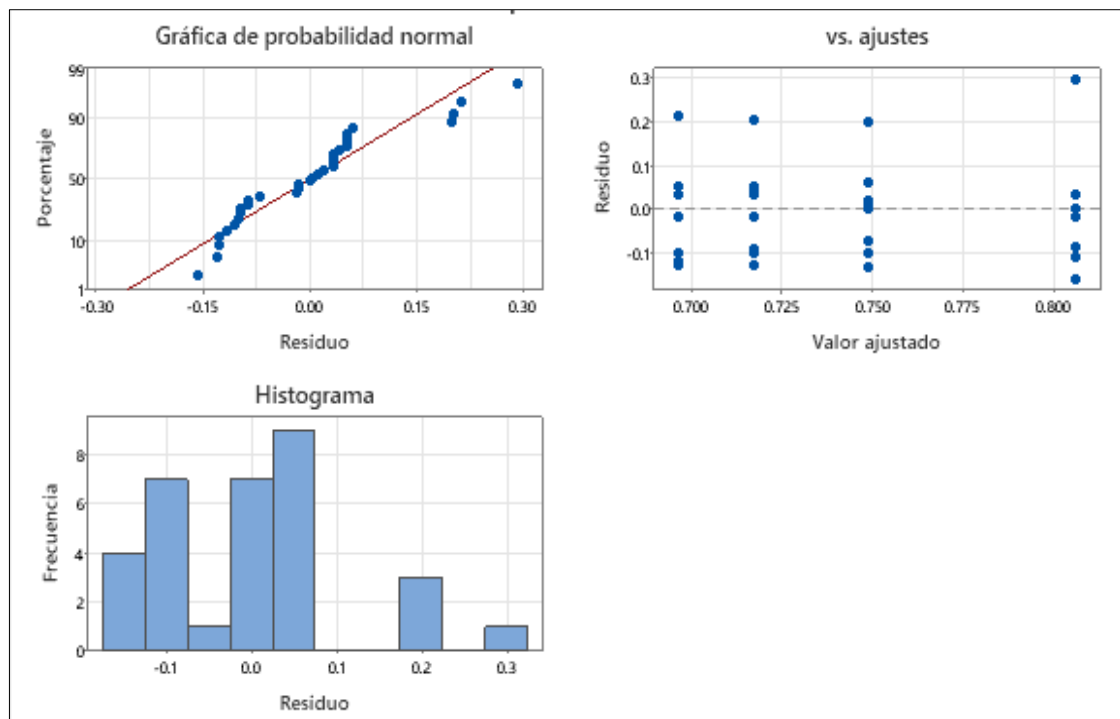
Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor (F2)	3	0,05493	0,01831	1,35	0,278
Error	28	0,37981	0,01356		
Total	31	0,43475			

Desv.Est. agrupada = 0,116468; *No hay diferencias significativas*

Figura 29

Gráficas de Residuos para la Validación del Modelo de Regresión de % Ac. Láctico evaluadas en 1,7,14 y 21 días



Los supuestos de normalidad, homocedasticidad e independencia de los errores parecen cumplirse razonablemente bien, Sin embargo, la debilidad del modelo (reflejada en el bajo R^2) implica que la relación entre las variables no es completamente lineal.

ANEXO 9 Análisis de varianza y prueba de Tukey de producción de sólidos solubles °Brix evaluadas en 1,7,14 y 21 días

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor (F2)	3	5,695	1,8983	3,30	0,035
Error	28	16,100	0,5750		
Total	31	21,795			

Desv.Est. agrupada = 0.75829

Resumen del modelo

S	R-cuadrado	R-cuadrado(ajustado)	R-cuadrado (pred)
0.758288	26.13%	18.22%	3.52%

Comparaciones en pruebas de Tukey

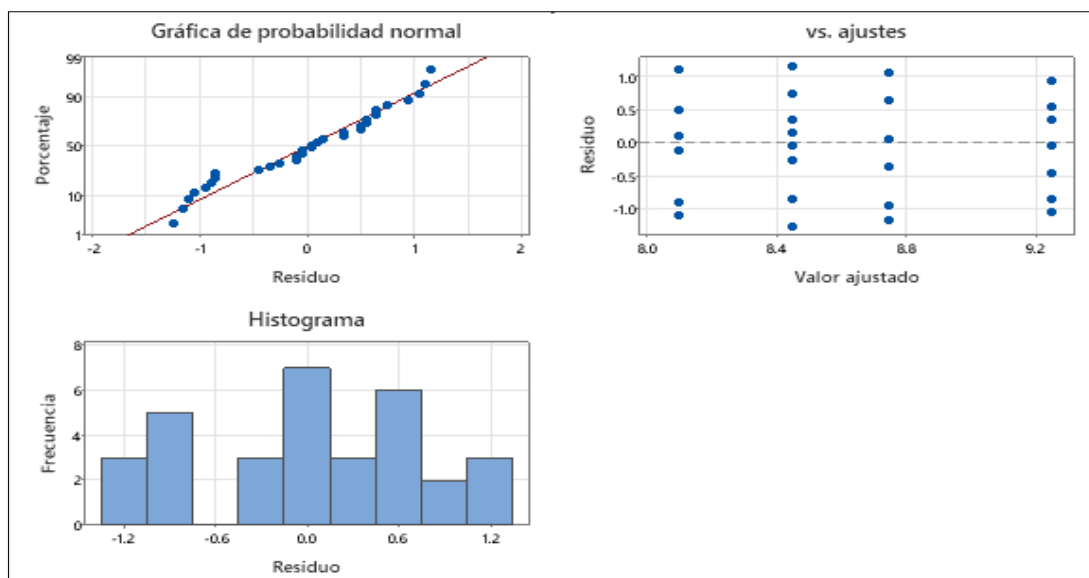
Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Factor	N	Media	Agrupación
°Brix 1	8	9,250	A
°Brix 7	8	8,750	A B
°Brix 14	8	8,450	A B
°Brix 21	8	8,100	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Figura 30

Gráficas de Residuos para la Validación del Modelo de Regresión para °Brix evaluadas en 1,7,14 y 21 días



Normalidad, Homocedasticidad e independencia de los errores tienden a cumplirse razonablemente bien, aunque con algunas ligeras desviaciones en los extremos que pueden afectar de forma significativa la validez del modelo.

ANEXO 10 Análisis de varianza y prueba de Tukey de producción de sólidos solubles pH evaluadas en 1,7,14 y 21 días

Método	
Hipótesis nula	Todas las medias son iguales
Hipótesis alterna	No todas las medias son iguales
Nivel de significancia	$\alpha = 0,05$

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor (F2)	3	1,786	0,5954	4,45	0,011
Error	28	3,748	0,1338		
Total	31	5,534			

Desv.Est. agrupada = 0,36585

Resumen del modelo

S	R-cuadrado	R-cuadrado(ajustado)	R-cuadrado (pred)
0.365848	32.28%	25.02%	11.55%

Comparaciones en pruebas de Tukey

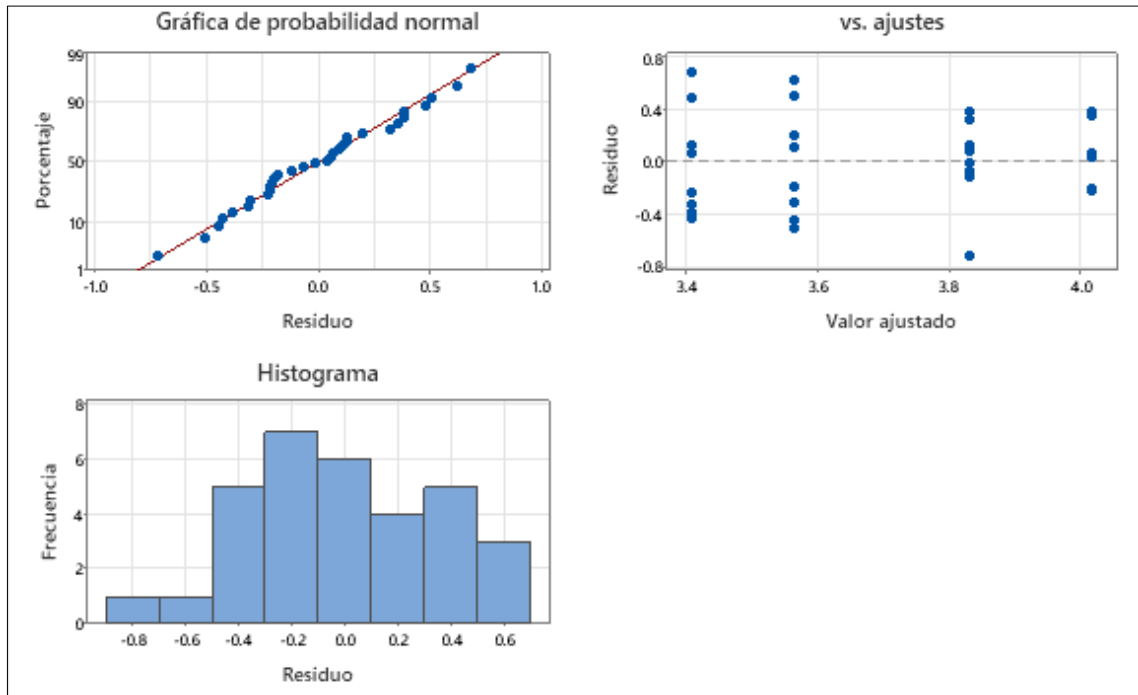
Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Factor	N	Media	Agrupación	
pH 1	8	4,0187	A	
pH 7	8	3,830	A	B
pH 14	8	3,564	A	B
pH 21	8	3,406		B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Figura 31

Gráficas de Residuos para la Validación del Modelo de Regresión para pH evaluadas en 1,7,14 y 21 días



Los supuestos de normalidad, homocedasticidad e independencia de los errores tienden a cumplirse según el gráfico, pero existen desviaciones en los extremos según la gráfica de normalidad.

ANEXO 11 Análisis de varianza y prueba de Tukey de la evaluación sensorial para olor

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor (olor)	7	97,38	13,9119	20,99	0,000
Error	232	153,80	0,6629		
Total	239	251,18			

Desv.Est. agrupada = 0,814206

Resumen del modelo

S	R-cuadrado	R-cuadrado(ajustado)	R-cuadrado (pred)
0.814206	38.77%	36.92%	34.47%

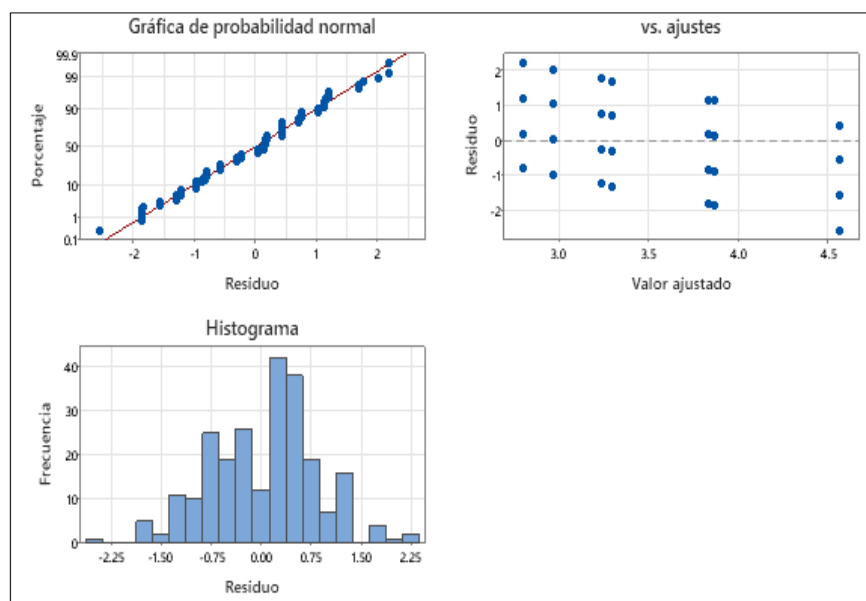
Comparaciones en pruebas de Tukey confianza de 95%

Factor	N	Media	Agrupación	
T7 O	30	4.567	A	
T3 O	30	4.567	A	
T4 O	30	3.867	B	
T8 O	30	3.833	B	
T1 O	30	3.300	B	C
T2 O	30	3.233	B	C
T5 O	30	2.967		C
T6 O	30	2.800		C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Figura 32

Gráficas de Residuos para la Validación del Modelo de Regresión para olor



Los supuestos de normalidad, homocedasticidad e independencia de los errores se cumplen adecuadamente. Los residuos están normalmente distribuidos y sin correlación evidente.

ANEXO 12 Análisis de varianza y prueba de Tukey de la evaluación sensorial para color

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor (color)	7	92,07	13,1524	20,58	0,000
Error	232	148,27	0,6391		
Total	239	240,33			

Desv.Est. agrupada = 0,799425

Resumen del modelo

S	R-cuadrado	R-cuadrado(ajustado)	R-cuadrado (pred)
0.799425	38.31%	36.45%	33.98%

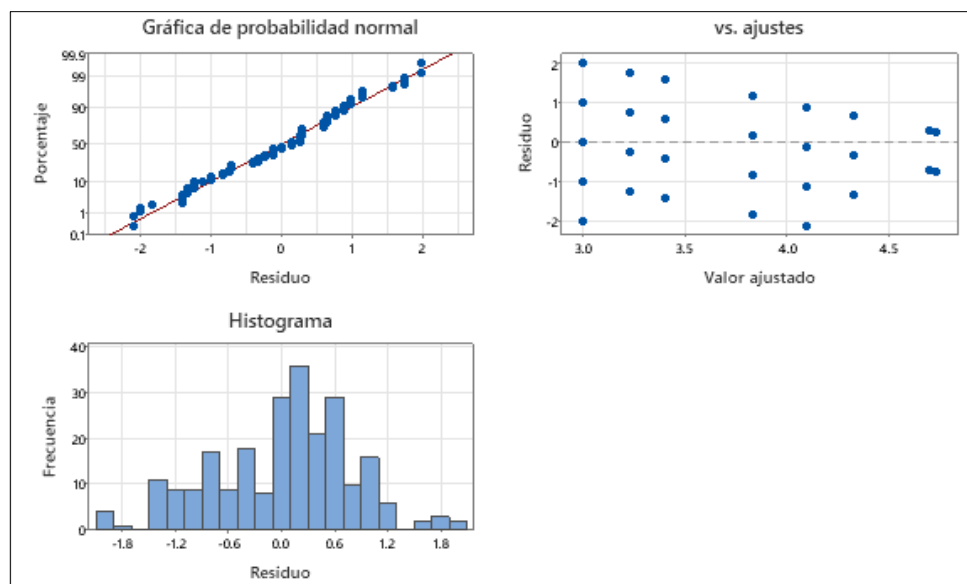
Comparaciones en pruebas de Tukey confianza de 95%

Factor	N	Media	Agrupación
T3 C	30	4.7333	A
T7 C	30	4.7000	A B
T4 C	30	4.3333	A B C
T8 C	30	4.1000	B C
T1 C	30	3.8333	C D
T6 C	30	3.4000	D E
T5 C	30	3.2333	D E
T2 C	30	3.0000	E

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Figura 33

Gráficas de Residuos para la Validación del Modelo de Regresión para color



Los supuestos del modelo de regresión de normalidad, homocedasticidad e independencia de los errores se cumplen adecuadamente. Los residuos siguen una distribución normal.

ANEXO 13 Análisis de varianza y prueba de Tukey de la evaluación sensorial para sabor

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor (sabor)	7	147.3	21.0357	27.93	0.000
Error	232	174.7	0.7532		
Total	239	322.0			

Desv.Est. agrupada = 0,867848

Resumen del modelo

S	R-cuadrado	R-cuadrado(ajustado)	R-cuadrado (pred)
0.867848	45.73%	44.09%	41.93%

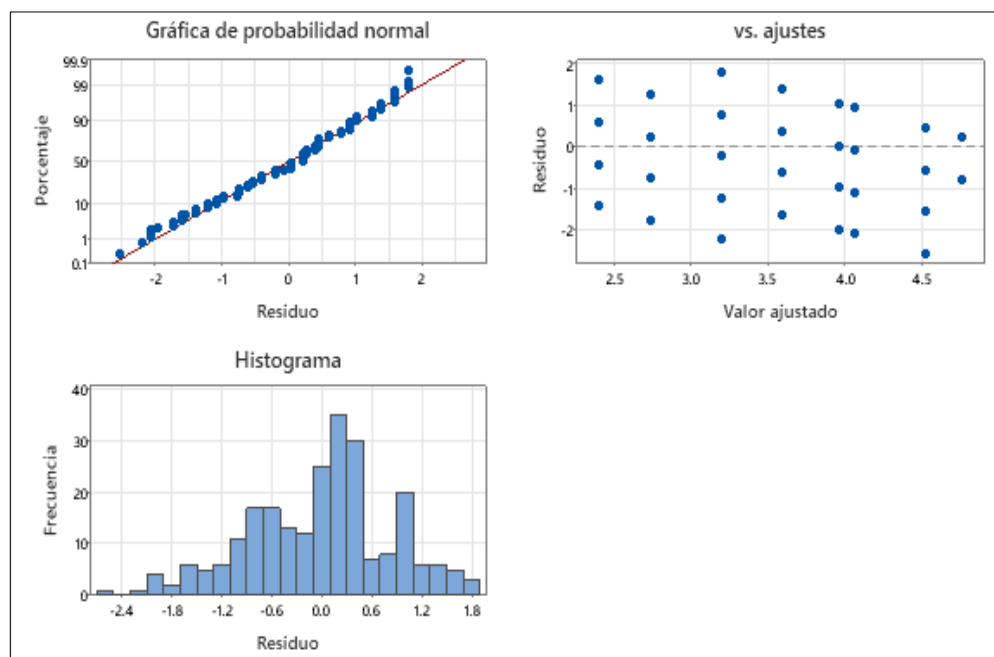
Comparaciones en pruebas de Tukey confianza de 95%

Factor	N	Media	Agrupación		
T3 S	30	4.7667	A		
T7 S	30	4.533	A	B	
T4 S	30	4.067	B	C	
T8 S	30	3.967	B	C	
T1 S	30	3.600		C	D
T2 S	30	3.200		D	E
T5 S	30	2.733			E F
T6 S	30	2.400			F

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Figura 34

Gráficas de Residuos para la Validación del Modelo de Regresión para sabor



Los supuestos del modelo de regresión de normalidad, homocedasticidad e independencia de los errores se cumplen adecuadamente mostrando una distribución normal en residuos.

ANEXO 14 Coeficientes del diseño de optimización de mashua negra, yacón y espirulina

Ecuación de regresión en unidades no codificadas

$$\% \text{ Ac. Lac. 72} = 0.785 - 0.0002 \text{ H-mn (\%)} - 0.0762 \text{ H-y (\%)} + 1.67 \text{ H-e (\%)} - 0.0013 \text{ H-mn (\%)} \times \text{H-mn (\%)} + 0.0051 \text{ H-y (\%)} \times \text{H-y (\%)} - 44.2 \text{ H-e (\%)} \times \text{H-e (\%)} + 0.0044 \text{ H-mn (\%)} \times \text{H-y (\%)} + 0.280 \text{ H-mn (\%)} \times \text{H-e (\%)} + 0.720 \text{ H-y (\%)} \times \text{H-e (\%)}.$$

Resumen del modelo

S	R-cuadrado	R-cuadrado(ajustado)	R-cuadrado (pred)
0.161271	65.93%	0.00%	0.00%

Ecuación de regresión en unidades no codificadas

$$\% \text{Ac. Lac0} = 0.3144 - 0.0071 \text{ H-mn (\%)} - 0.0237 \text{ H-y (\%)} + 0.29 \text{ H-e (\%)} - 0.00045 \text{ H-mn (\%)} \times \text{H-mn (\%)} + 0.00542 \text{ H-y (\%)} \times \text{H-y (\%)} - 15.7 \text{ H-e (\%)} \times \text{H-e (\%)} - 0.00103 \text{ H-mn (\%)} \times \text{H-y (\%)} + 0.129 \text{ H-mn (\%)} \times \text{H-e (\%)} + 0.056 \text{ H-y (\%)} \times \text{H-e (\%)}.$$

Resumen del modelo

S	R-cuadrado	R-cuadrado(ajustado)	R-cuadrado (pred)
0.0633043	58.19%	0.00%	0.00%

ANEXO 15 Resultados de análisis microbiológico del laboratorio de Biotecnología-UNSCH del kéfir de agua con sustratos.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
Laboratorio de BIOTECNOLOGÍA
 Av. Independencia s/n Huamanga. Ciudad Universitaria



Número de informe: 042024LBPGGA
 Número de ensayo: 113
 Fecha e elaboración del informe: 16/08/2024

INFORME DE ENSAYO

DATOS GENERALES DEL CLIENTE
 Empresa: Lisbeth Anabel CUBA SOSA
 Contacto: Tesista - UNSCH

MUESTRA 01 Código T0

Descripción: Bebida fermentada solo con agua azucarada sin influencia de sustratos
 Procedimiento de muestreo: Intencional
 Muestreado por: Lisbeth Anabel Cuba Sosa
 Fecha y hora de muestreo: 9 de agosto del 2024 a las 3 pm

RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Descripción	Especificación	Resultado	Conclusión
Coliformes	<100 NMP/mL	<3 NPM/mL	Conforme
<i>E. coli</i>	<=10 NMP/g	<3 NMP/mL	Conforme
Bacterias probióticas	10 ⁶ UFC/mL	10 ⁶ UFC/mL	Conforme

MUESTRA 02 Código T1

Descripción: Bebida fermentada con harina de yacón al 5%
 Procedimiento de muestreo: Intencional
 Muestreado por: Lisbeth Anabel Cuba Sosa
 Fecha y hora de muestreo: 9 de agosto del 2024 a las 3 pm



Firmado digitalmente por:
 GARCIA GODOZ ALCÁZAR
 Paula FAU 20143000704 soft
 Motivo: Soy el autor del
 documento
 Fecha: 04/10/2024 21:25:32-0500

RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Descripción	Especificación	Resultado	Conclusión
Coliformes	<100 NMP/mL	<3 NPM/mL	Conforme
<i>E. coli</i>	<=10 NMP/g	<3 NMP/mL	Conforme
Bacterias probióticas	10 ⁶ UFC/mL	10 ⁷ UFC/mL	Conforme

Conforme: Es apto para el consumo humano.

paula.garciagodos@unsch.edu.pe

966606014

MUESTRA 03 Código T2

Descripción: Bebida fermentada con harina de yacón al 4,9% y espirulina al 0,1%.

Procedimiento de muestreo: Intencional

Muestreado por: Lisbeth Anabel Cuba Sosa

Fecha y hora de muestreo: 9 de agosto del 2024 a las 3 pm

RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Descripción	Especificación	Resultado	Conclusión
Coliformes	<100 NMP/mL	<3 NPM/mL	Conforme
<i>E. coli</i>	<=10 NMP/g	<3 NMP/mL	Conforme
Bacterias probióticas	10 ⁶ UFC/mL	10 ⁷ UFC/mL	Conforme

Conforme: Es apto para el consumo humano.

MUESTRA 04 Código T3

Descripción: Bebida fermentada con harina de mashua negra al 5%

Procedimiento de muestreo: Intencional

Muestreado por: Lisbeth Anabel Cuba Sosa

Fecha y hora de muestreo: 9 de agosto del 2024 a las 3 pm

RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Descripción	Especificación	Resultado	Conclusión
Coliformes	<100 NMP/mL	<3 NPM/mL	Conforme
<i>E. coli</i>	<=10 NMP/g	<3 NMP/mL	Conforme
Bacterias probióticas	10 ⁶ UFC/mL	10 ⁷ UFC/mL	Conforme

Conforme: Es apto para el consumo humano.



Firma digitalizada por:
GARCIA GODOES ALCÁZAR
Paula FAU 20148007014 soft
Motivo: Soy el autor del
documento
Fecha: 09/08/2024 21:29:07-0500

MUESTRA 05 Código T4

Descripción: Bebida fermentada con harina de mashua negra al 4,9% y espirulina al 0.1%

Procedimiento de muestreo: Intencional

Muestreado por: Lisbeth Anabel Cuba Sosa

Fecha y hora de muestreo: 9 de agosto del 2024 a las 3 pm

RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Descripción	Especificación	Resultado	Conclusión
Coliformes	<100 NMP/mL	<3 NPM/mL	Conforme
<i>E. coli</i>	<=10 NMP/g	<3 NMP/mL	Conforme
Bacterias probióticas	10 ⁶ UFC/mL	10 ⁶ UFC/mL	Conforme

Conforme: Es apto para el consumo humano.

MUESTRA 06 Código T5

Descripción: Bebida fermentada con harina de mashua negra al 1,2%, harina de yacón al 3,7% y espirulina al 0,03%

Procedimiento de muestreo: Intencional

Muestreado por: Lisbeth Anabel Cuba Sosa

Fecha y hora de muestreo: 9 de agosto del 2024 a las 3 pm

RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Descripción	Especificación	Resultado	Conclusión
Coliformes	<100 NMP/mL	<3 NPM/mL	Conforme
<i>E. coli</i>	<=10 NMP/g	<3 NMP/mL	Conforme
Bacterias probióticas	10 ⁶ UFC/mL	10 ⁶ UFC/mL	Conforme

Conforme: Es apto para el consumo humano.



Firmado digitalmente por:
GARCIA GODOES ALCAZAR
Paula PAU 20143660754 soft
Módulo: Soy el autor del
documento
Fecha: 04/10/2024 21:34:06-0100

paula.garciagodos@unsch.edu.pe

988608014

MUESTRA 07 Código T6

Descripción: Bebida fermentada con harina de mashua negra al 1,2%, harina de yacón al 3,7% y espirulina al 0,1%.

Procedimiento de muestreo: Intencional

Muestreado por: Lisbeth Anabel Cuba Sosa

Fecha y hora de muestreo: 9 de agosto del 2024 a las 3 pm

RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Descripción	Especificación	Resultado	Conclusión
Coliformes	<100 NMP/mL	<3 NPM/mL	Conforme
<i>E. coli</i>	<=10 NMP/g	<3 NMP/mL	Conforme
Bacterias probióticas	10 ⁶ UFC/mL	10 ⁶ UFC/mL	Conforme

Conforme: Es apto para el consumo humano.

MUESTRA 08 Código T7

Descripción: Bebida fermentada con harina de mashua negra al 3,7%, harina de yacón al 1,2% y espirulina al 0,03%

Procedimiento de muestreo: Intencional

Muestreado por: Lisbeth Anabel Cuba Sosa

Fecha y hora de muestreo: 9 de agosto del 2024 a las 3 pm

RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Descripción	Especificación	Resultado	Conclusión
Coliformes	<100 NMP/mL	<3 NPM/mL	Conforme
<i>E. coli</i>	<=10 NMP/g	<3 NMP/mL	Conforme
Bacterias probióticas	10 ⁶ UFC/mL	10 ⁶ UFC/mL	Conforme

Conforme: Es apto para el consumo humano.



Firmado digitalmente por:
GARCIA DODOS ALCAZAR
Paula FAU 20149000704 soft
Motivo: Soy el autor del
documento
Fecha: 04/10/2024 21:34:20-0500

paula.garciagodoss@unsch.edu.pe

988608014

MUESTRA 09 Código T8

Descripción: Bebida fermentada de harina de mashua negra al 3,7%, harina de yacón al 1,2% y espirulina al 0,1%.

Procedimiento de muestreo: Intencional

Muestreado por: Lisbeth Anabel Cuba Sosa

Fecha y hora de muestreo: 9 de agosto del 2024 a las 3 pm

RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Descripción	Especificación	Resultado	Conclusión
Coliformes	<100 NMP/mL	<3 NPM/mL	Conforme
<i>E. coli</i>	<=10 NMP/g	<3 NMP/mL	Conforme
Bacterias probióticas	10 ⁶ UFC/mL	10 ⁶ UFC/mL	Conforme

Conforme: Es apto para el consumo humano.

Atentamente,

Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga
Laboratorio de Biotecnología



Paula FAU
Dra. Paula GARCÍA DODOS ALCÁZAR
Académica de 1 laboratorio



Firmado digitalmente por:
GARCIA DODOS ALCÁZAR
Paula FAU 20140300754 soft
Web: Soy el autor del
documento
Fecha: 04/10/2024 11:34:32-0500

**UNSCH**FACULTAD DE INGENIERÍA
**QUÍMICA Y
METALURGIA****ACTA DE SUSTENTACIÓN DE LA TESIS PRESENCIAL:**

(Reglamento de grados y títulos, aprobado con RCU N° 314-2021-UNSCH-CU)

Evaluación fisicoquímica y funcional del Kéfir de agua con mashua negra (*Tropaeolum tuberosum R.et P.*), yacon (*Smallanthus sonchifolius*) y espirulina (*Spirulina*)

**Expositora: Lisbeth Anabel Cuba Sosa
Bachiller en Ingeniería Agroindustrial**

Expediente N° 2471429**Resolución Decanal N° 237-2024-UNSCH-FIQM/D****Fecha: 26-11-2024**

En la Sala de Conferencias "Pedro VILLENA HIDALGO" de la Facultad de Ingeniería Química y Metalurgia, ubicada en la Ciudad Universitaria de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (H-121), siendo las nueve de la mañana con cinco minutos del día jueves veintiocho de noviembre del año dos mil veinticuatro, se reunieron la Bachiller en Ingeniería Agroindustrial **Lisbeth Anabel Cuba Sosa**, los Docentes Miembros del Jurado de Sustentación Ingenieros: Dr. Saúl Ricardo CHUQUI DIESTRA, Mg. Jack Edson HERNANDEZ MAVILA y Mg. Percy Segundo HUAUYA PABLO, bajo la Presidencia del Dr. Agustín Julián PORTUGUEZ MAURTUA (Decano de la FIQM), Mg. Percy Fermín VELASQUEZ CCOSI (Docente Asesor de la Tesis), el Mg. Fredy Rober PARIONA ESCALANTE (Secretario-Docente) y el público asistente.

Acto seguido, el Presidente del Jurado de Sustentación dispuso que el Secretario Docente dé lectura a los antecedentes tramitados para el presente Acto Público de Sustentación de la Tesis: **Evaluación fisicoquímica y funcional del Kéfir de agua con mashua negra (*Tropaeolum tuberosum R.et P.*), yacon (*Smallanthus sonchifolius*) y espirulina (*Spirulina*)**, presentado por la Bachiller **Lisbeth Anabel Cuba Sosa**. A continuación, el Secretario-Docente procedió a dar lectura a la Resolución Decanal N° 237-2024-UNSCH-FIQM/D.

Luego, el Presidente del Jurado invitó a la Bachiller **Lisbeth Anabel Cuba Sosa**, a pasar al estrado y exponer su trabajo de Tesis en un tiempo máximo de cuarenta y cinco minutos.

Terminada la exposición de la Bachiller, el Presidente invitó a los Señores Miembros del Jurado de Sustentación a que formulen sus preguntas y señalen sus observaciones, en el siguiente orden: Mg. Percy Segundo HUAUYA PABLO, Mg. Jack Edson HERNANDEZ MAVILA y Dr. Saúl Ricardo CHUQUI DIESTRA. Luego el Presidente invitó al Mg. Percy Fermín VELASQUEZ CCOSI para que, en su condición de Docente Asesor, se sirva levantar las observaciones del Jurado y efectuar las aclaraciones que considere conveniente.

Concluyó con esta etapa el Dr. Agustín Julián PORTUGUEZ MAURTUA, en su condición de Presidente.

**UNSCH**FACULTAD DE INGENIERIA
QUÍMICA Y
METALURGIA**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE LA TESIS PRESENCIAL:**

(Reglamento de grados y títulos, aprobado con RCU N° 314-2021-UNSCH-CU)

Evaluación fisicoquímica y funcional del Kéfir de agua con mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* R.et P.), yacon (*Smallanthus sonchifolius*) y espirulina (*Spirulina*)

Expositora: Lisbeth Anabel Cuba Sosa
Bachiller en Ingeniería Agroindustrial

Expediente N° 2471429

Resolución Decanal N° 237-2024-UNSCH-FIQM/D

Fecha: 26-11-2024

Culminada la etapa de preguntas, el Presidente del Jurado invitó a la Sustentante y al público para que se sirvan abandonar la Sala de Conferencias con la finalidad de permitir al Jurado de Sustentación deliberar sobre la evaluación a otorgar. Se alcanzó el siguiente resultado. **APROBADA POR UNANIMIDAD PROMEDIO QUINCE (15).**

Finalmente, el Presidente del Jurado dispuso que se invite a la Sustentante y al público asistente a que se sirvan ingresar a la Sala de Conferencias, y anunció que la Bachiller **Lisbeth Anabel Cuba Sosa**, ha resultado **APROBADA POR UNANIMIDAD**, y por lo tanto a partir de la fecha la Universidad y la Facultad cuenta con una flamante **INGENIERA AGROINDUSTRIAL** y le augura éxitos en su desempeño profesional.

Siendo las diez de la mañana con cincuenta minutos, se dio por concluido el acto académico de Sustentación de Tesis. En fe de lo cual firmamos:


.....
Dr. Agustín Julián PORTUGUEZ MAURTUA
Presidente


.....
Dr. Saul Ricardo CHUQUI DIESTRA
Miembro


.....
Mg. Jack Edson HERNANDEZ MAVILA
Miembro


.....
Mg. Percy Segundo HUAUYA PABLO
Miembro


.....
Mg. Fredy Rober PARIONA ESCALANTE
(Secretario Docente)

FACULTAD DE INGENIERIA
QUÍMICA Y METALURGIA
Av. Independencia s/n
Ciudad Universitaria
Tel. (056) 781368

**UNSCH****FACULTAD DE
INGENIERÍA QUÍMICA
Y METALURGIA****ESCUELA PROFESIONAL DE
INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

La Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Facultad de Ingeniería Química y Metalurgia de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, emite la siguiente:

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD

Que, el egresado de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial ha remitido, con el aval y por intermedio de su asesor de la Tesis M.Sc. PERCY FERMÍN VELÁSQUEZ CCOSI, se procedió a la evaluación de originalidad del archivo adjunto con el TURNITIN - UNSCH, de acuerdo a los criterios establecidos en el Reglamento de Originalidad de Trabajos de Investigación de la UNSCH, aprobado con Resolución del Consejo Universitario N° 039-2021-UNSCH-CU; cuyos resultados son:

Tesis Evaluación fisicoquímica y funcional del kéfir de agua con mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* R.et P.), yacón (*Smallanthus sonchifolius*) y espirulina (*Spirulina*).

Nombre y Apellido : Bach. LISBETH ANABEL CUBA SOSA
Identificador de entrega : 2600936423
Fecha : 27-feb-2025 10:27p.m. (UTC-0500)
Archivo : TESIS_FINAL_CUBA_SOSA_LISBETH_ANABEL.pdf (2.54M)

Se expide la presente constancia de originalidad, con reporte del 17 % de ÍNDICE DE SIMILITUD realizado con Depósito de trabajos estándar, a fin de proseguir con los trámites pertinentes; cabe señalar que los documentos del procedimiento se archivan en el repositorio documental de la Escuela.

Ayacucho, 3 de marzo del 2025

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA
E.P. INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

Ing. Percy Fermín Velásquez Ccosi
DIRECTOR

C.c.
Const. N°001-2025
Archivo

ESCUELA PROFESIONAL DE
INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
Av. Independencia S/N - Ayacucho
Telf. 066-303496
Correo: ep.agroindustrial@unsch.edu.pe

Evaluación fisicoquímica y funcional del kéfir de agua con mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* R.et P.), yacón (*Smallanthus sonchifolius*) y espirulina (*Spirulina*)

por Lisbeth Anabel Cuba Sosa

Fecha de entrega: 27-feb-2025 10:27p.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2600936423

Nombre del archivo: TESIS_FINAL_CUBA_SOSA_LISBETH_ANABEL.pdf (2.54M)

Total de palabras: 25793

Total de caracteres: 135740

Evaluación fisicoquímica y funcional del kéfir de agua con mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* R.et P.), yacón (*Smallanthus sonchifolius*) y espirulina (*Spirulina*)

INFORME DE ORIGINALIDAD

17%	18%	4%	5%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	dspace.esPOCH.edu.ec Fuente de Internet	4%
2	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga Trabajo del estudiante	2%
3	repositorio.unamba.edu.pe Fuente de Internet	1%
4	hdl.handle.net Fuente de Internet	1%
5	repositorio.utC.edu.ec Fuente de Internet	1%
6	buleria.unileon.es Fuente de Internet	1%
7	repositorio.unac.edu.pe Fuente de Internet	1%
8	repositorio.unsch.edu.pe Fuente de Internet	1%
9	repositorio.lamolina.edu.pe Fuente de Internet	1%
10	smbb.mx Fuente de Internet	1%

repositorio.unheval.edu.pe

11	Fuente de Internet	<1 %
12	pdffox.com Fuente de Internet	<1 %
13	1library.co Fuente de Internet	<1 %
14	repositorio.uncp.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
15	Submitted to Universidad TecMilenio Trabajo del estudiante	<1 %
16	repositorio.unap.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
17	dokumen.pub Fuente de Internet	<1 %
18	www2.iap.fr Fuente de Internet	<1 %
19	es.scribd.com Fuente de Internet	<1 %
20	repositorio.unicach.mx Fuente de Internet	<1 %
21	kefir.win Fuente de Internet	<1 %
22	repositorio.utn.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
23	repositorio.ug.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
24	cybertesis.unmsm.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
25	repositorio.unjbg.edu.pe Fuente de Internet	<1 %

26	tesis.ucsm.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
27	sedici.unlp.edu.ar Fuente de Internet	<1 %
28	Submitted to Universidad Tecnica De Ambato- Direccion de Investigacion y Desarrollo , DIDE Trabajo del estudiante	<1 %
29	repository.lasalle.edu.co Fuente de Internet	<1 %
30	kefirko.es Fuente de Internet	<1 %
31	repositorio.unprg.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
32	Submitted to Universidad Peruana de Las Americas Trabajo del estudiante	<1 %

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias

< 30 words

Excluir bibliografía

Activo