



**UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS**  
**CARRERA INGENIERÍA EN ALIMENTOS**

Unidad de Integración Curricular  
previo a la obtención del título de  
Ingeniera en Alimentos.

**Título de la Unidad de Integración Curricular:**

**“Bebida fermentada a base de lactosuero y soya (*Glycine max*) inoculada con mucílago de cacao nacional (*Theobroma cacao* L.).”**

**Autora:**

**Gema María Muñoz Mendoza**

**Tutor de la Unidad de Integración Curricular:**

**Ing. Nelson Ramiro Villegas PhD.**

**Quevedo – Los Ríos – Ecuador**

**2019**



## DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **Gema María Muñoz Mendoza**, declaro libremente que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en el documento.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.

---

Gema María Muñoz Mendoza  
C.C.: 172594125-4

## **CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR**

El suscrito, Ing. Nelson Ramiro Villegas Soto, PhD; Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que la egresada Srta. Gema María Muñoz Mendoza, realizó el proyecto de investigación titulado: **“BEBIDA FERMENTADA A BASE DE LACTOSUERO Y SOYA (*Glycine max*) INOCULADA CON MUCÍLAGO DE CACAO NACIONAL (*Theobroma cacao* L.)”** previo a la obtención del título de Ingeniera en Alimentos; bajo mi dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecida para el efecto.

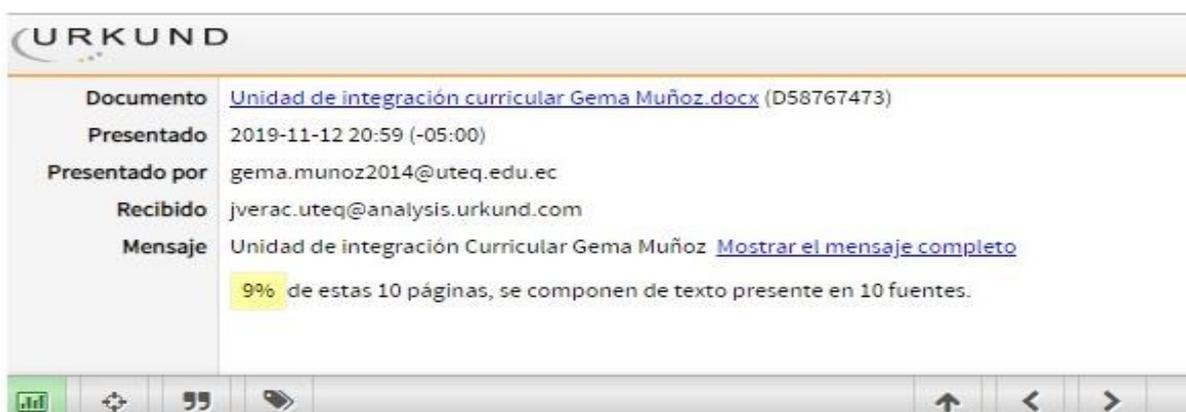
---

Ing. Nelson Ramiro Villegas Soto, PhD.

**DIRECTOR DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR**

## CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PRECAUCIÓN DE COINCIDENCIAS Y/O PLAGIO ACADÉMICO

Ing. Nelson Villegas Soto PhD., en calidad de Director de la Unidad de Integración Curricular titulada **“BEBIDA FERMENTADA A BASE DE LACTOSUERO Y SOYA (*Glycine max*) INOCULADA CON MUCÍLAGO DE CACAO NACIONAL (*Theobroma cacao L.*)”**, el mismo que ha sido elaborado y presentado por la Srta. Gema María Muñoz Mendoza, estudiante de la carrera de Ingeniería en Alimentos modalidad presencial del paralelo A, me permito certificar, que se realizó la revisión respectiva del sistema Urkund, con un porcentaje favorable del 9% de similitud, la cual indica el rigor del documento, cumpliendo con el reglamento y la normativa establecida por la Universidad.



The screenshot shows the URKUND interface with the following details:

URKUND	
Documento	<a href="#">Unidad de integración curricular Gema Muñoz.docx</a> (D58767473)
Presentado	2019-11-12 20:59 (-05:00)
Presentado por	gema.munoz2014@uteq.edu.ec
Recibido	jverac.uteq@analysis.urkund.com
Mensaje	Unidad de integración Curricular Gema Muñoz <a href="#">Mostrar el mensaje completo</a>
	9% de estas 10 páginas, se componen de texto presente en 10 fuentes.

At the bottom of the interface, there is a navigation bar with icons for home, search, and navigation.

---

Ing. Nelson Ramiro Villegas Soto, PhD.

**DIRECTOR DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR**



# UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO

## FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS

### CARRERA INGENIERÍA EN ALIMENTOS

#### UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

##### **Título:**

“Bebida fermentada a base de lactosuero y soya (*Glycine max*) inoculada con mucílago de cacao nacional (*Theobroma cacao* L.).”

Presente al Concejo Académico de la Facultad como requisito previo a la obtención del título de Ingeniera en Alimentos.

Aprobado por:

---

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL  
Ing. Christian Vallejo Torres, MSc.

---

MIEMBRO DEL TRIBUNAL  
Ing. Cyntia Erazo Solórzano, MSc.

---

MIEMBRO DEL TRIBUNAL  
Ing. Jaime Vera Chang, MSc.

QUEVEDO – LOS RÍOS – ECUADOR

2019

## **AGRADECIMIENTOS**

### ***A Dios***

*Gracias por la fuerza que me diste de seguir adelante y no desfallecer ni desistir a último momento por todas las puertas que abriste, pero aún más, gracias por todas las que cerraste para protegerme.*

### ***A la Lic. María Inés Mendoza***

*A mi mamá por haber estado en las buenas y malas guiándome, escuchándome, por darme todo sin esperar nada a cambio, tus logros son impresionantes, tu amor para mí lo más valioso, tus regaños fundamentales para la culminación de mi carrera, siempre agradecida.*

### ***Al Lic. Béder Muñoz Cedeño***

*En mi infancia te veía como un rey, como mi protector y mi consuelo siempre lo seguirás siendo en mi corazón, gracias por enseñarme a ser independiente y fuerte cuando nos sentimos solos.*

### ***Al Econ. Vicente Moreno***

*Gracias por criarme y enseñarme a valorar las cosas que nos brinda la vida, por demostrarme que siempre debemos salir adelante a pesar de las adversidades.*

### ***A Vicente moreno***

*Por darme la felicidad más grande de ser tú única hermana y volver a ser niños cuando compartimos tiempo juntos.*

### ***Al Ing. Jefferson Gorozabel***

*Mi prometido, mi amigo, mi compañero gracias por estar allí cuando más te he necesitado, mi pañuelo de lágrimas en los momentos más difíciles.*

### ***A Indira Macias***

*Mi mejor amiga por esa amistad incomparable, por compartir estos cinco años de estudios, por soportar mi carácter, aconsejarme en nuestras charlas infinitas te quiero mucho querida amiga.*

### ***A los Ings. Cyntia Erazo, Jaime Vera, Christian Vallejo & Nelson Villegas.***

*Ing. Cyntia una gran mujer y ejemplo de profesionalismo, por compartir sus experiencias y enseñanzas, Ing. Jaime por su paciencia, constancia y felicidad que demuestra siempre. Ing. Christian por formar parte de esta investigación y compartir sus anécdotas y entusiasmo en cada clase y por último a mi tutor Ing. Nelson Villegas por ser guía y apoyo.*

## **DEDICATORIA**

### ***A Dios***

*A mi padre celestial que me acompaña y me guía por el buen camino, que le da propósito a mi vida me levanta a pesar de las circunstancias.*

### ***A mi madre***

*Eres una mujer que me llena de orgullo y ejemplo, no habrá manera de devolverte tanto que me has dado. Este segundo logro más que llevo a cabo es gracias a ti, mi mayor fortaleza no sé qué sería de mí sin tenerte a mi lado, si volviera a nacer te volvería a escoger.*

### ***A mi hermano***

*Vicente Moreno, aunque la mayoría de veces tengamos batallas e incluso guerras este trabajo te lo dedico como ejemplo del esfuerzo y constancia.*

### ***A mi prometido***

*Jefferson Gorozabel esta investigación no fue fácil pero siempre estuviste allí para motivarme y ayudarme hasta donde fue posible estos 3 maravillosos años.*

*Gema Muñoz.*

## RESUMEN EJECUTIVO

La presente investigación se orienta al desarrollo de una bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional al 5%, 10% y 15% mejorando así sus características organolépticas y dándole el uso adecuado a dichos subproductos, se aplicó un Diseño Completamente al azar con cuatro tratamientos y cuatro repeticiones. Para comparar las medias de los tratamientos en cuanto a los análisis físico-químicos (pH, acidez °Brix, humedad, ceniza, sólidos totales) se utilizó la Prueba de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) demostrando así la diferencia significativa que existía en dichos parámetros. Para el análisis organoléptico (olor, color, sabor, gusto y textura) se utilizó la Prueba de Kruskal Wallis en donde el tratamiento que más destacó fue el T3, para la prueba de preferencia el que obtuvo mayor aceptación por los panelistas fue el T3 (67%) con 15% de mucílago de cacao considerándolo el mejor tratamiento, seguido del T2 (17%) con 10% de mucílago de cacao y el de menor valor T0 (6%) sin adición de mucílago. La viabilidad microbiológica que presentó mejores valoraciones fue del T3 con un  $4 \times 10^7$  y el de menor valor el T0 al día 20 de almacenamiento. La vida útil del mejor tratamiento T3, se realizó mediante la ecuación de vidas medias dando como resultado 17 días de durabilidad en condiciones de refrigeración. Mediante el análisis económico realizado al mejor tratamiento T3 se establece un precio de \$0,98ctvs el litro y con una utilidad del 20%.

**Palabras claves:** bebida fermentada, mucílago de cacao, soya, lactosuero, bacterias ácido lácticas (BAL), fermentación, inoculación.

## ABSTRACT

This research focuses on the development of a fermented drink based on whey and soy inoculated with national cocoa mucilage at 5%, 10% and 15% thus improving its organoleptic characteristics and giving the appropriate use to these by-products, a Completely random design with four treatments and four repetitions. To compare the mean of the treatments in terms of physical-chemical analyses (pH, acidity Brix, humidity, ash, total solids) the Tukey Test ( $p \leq 0.05$ ) was used thus demonstrating the significant difference that existed in these parameters. For the organoleptic analysis (smell, color, taste, taste and texture) the Kruskal Wallis Test was used where the treatment that most stood out was T3, for the test of preference that obtained the greatest acceptance by the panelists was the T3 (67%) with 15% cocoa mucilage considering it the best treatment, followed by T2 (17%) with 10% cocoa mucilage and the lowest T0 value (6%) without the addition of mucilage. The microbiological feasibility that showed the best ratings was T3 with a  $4 \times 10^7$  and the lowest value T0 to day 20 of storage. The lifespan of the best T3 treatment was performed by the half-life equation resulting in 17 days of durability in cooling conditions. The economic analysis carried out at the best Treatment T3 establishes a price of \$0.98ctvs per litre and with a utility of 20%.

Keywords: fermented drink, cocoa mucilage, soy, whey, lactic acid bacteria (BAL), fermentation, inoculation.

## TABLA DE CONTENIDO

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS .....	i
CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR.....	ii
CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PRECAUCIÓN DE COINCIDENCIAS Y/O PLAGIO ACADÉMICO .....	iii
AGRADECIMIENTOS .....	v
DEDICATORIA .....	vi
RESUMEN EJECUTIVO .....	vii
ABSTRACT .....	viii
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPITULO I.....	3
CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN .....	3
1.1. Problema de la investigación.....	4
1.1.1. Planteamiento del problema.....	4
1.1.2. Formulación del problema.....	6
1.1.3. Sistematización del problema. ....	6
1.2. Objetivos. ....	6
1.2.1. Objetivo General.....	6
1.2.2. Objetivos Específicos.....	6
1.3. Justificación. ....	7
CAPÍTULO II .....	8
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN .....	8
2.1. Marco Conceptual.....	9
2.2. Marco Referencial.....	11
2.2.1. Bebidas fermentadas.....	11
2.2.2. Fermentación. ....	11
2.2.3. Tipos de fermentación.....	11
2.2.4. Lactosuero.....	12
2.2.5. Tipos fundamentales de lactosuero. ....	12
2.2.6. Composición nutricional del lactosuero. ....	12
2.2.7. Aplicaciones y beneficios del lactosuero en alimentos. ....	14
2.2.8. Ventajas de consumir lactosuero en diferentes etapas. ....	15
2.2.9. Investigaciones realizadas con lactosuero. ....	16

2.2.10. Soya.....	17
2.2.11. Cultivo y cosecha.....	18
2.2.12. Composición nutricional de la soya.....	19
2.2.13. Investigaciones relacionadas con la soya.....	20
2.2.14. Historia del cacao nacional.....	21
2.2.15. Mucílago de cacao nacional.....	21
2.2.16. Composición del mucílago de cacao nacional.....	21
2.2.17. Investigaciones relacionadas con mucílago de cacao nacional.....	22
2.2.18. Bacterias ácido lácticas (BAL).....	22
2.2.19. Características de las BAL.....	23
2.2.20. Importancia de las BAL.....	23
2.2.21. Clasificación de las BAL.....	24
2.2.22. Morfología de las BAL.....	26
2.2.23. Tecnología de elaboración de la bebida fermentada.....	28
2.3. Marco legal.....	30
CAPÍTULO III.....	31
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	31
3.1. Localización.....	32
3.1.1. Condiciones meteorológicas.....	32
3.2. Tipo de investigación.....	32
3.3. Métodos de investigación.....	33
3.4. Fuentes de recopilación de información.....	34
3.5. Diseño de investigación.....	34
3.5.1. Esquema del ANDEVA.....	35
3.5.2. Modelo matemático.....	35
3.5.3. Esquema del experimento.....	35
3.6. Procedimiento experimental.....	37
3.6.1. Flujograma del proceso de recolección del mucílago de cacao nacional.....	37
3.6.2. Descripción de la recolección del mucílago de cacao.....	38
3.6.3. Flujograma de elaboración de la bebida fermentada inoculada con mucílago de cacao nacional.....	39
3.6.4. Descripción de la obtención del extracto de soya.....	40
3.6.5. Descripción de la obtención del lactosuero.....	41
3.6.6. Descripción de elaboración de la bebida fermentada.....	42
3.6.7. Formulación de la bebida fermentada inoculada con mucílago de cacao.....	43

3.7. Instrumentos de investigación.....	43
3.7.1. Viabilidad microbiológica de las (BAL). ....	43
3.7.2. Variables físico-químicas. ....	44
3.7.3 Variables organolépticas a evaluar. ....	46
3.7.4. Determinación del mejor tratamiento.....	47
3.7.5. Estimación de la vida útil de la bebida fermentada.....	47
3.7.6. Análisis económico. ....	48
3.8. Tratamiento de los datos. ....	49
3.9. Recursos humanos y materiales. ....	50
3.9.1. Materia prima. ....	50
3.9.2. Insumos. ....	50
3.9.3. Materiales.....	51
3.9.4. Materiales de laboratorio y medios de cultivo. ....	51
3.9.5. Equipos.....	52
3.9.6. Reactivos.....	52
CAPÍTULO IV.....	53
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	53
4.1. Parámetros iniciales de las materias primas para la elaboración de la bebida fermentada.....	54
4.2. Análisis físico- químicos de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional.....	54
4.2.1. pH en la bebida fermentada inoculada con mucílago de cacao.....	55
4.2.2. Acidez. ....	56
4.2.3. Humedad o pérdida por calentamiento. ....	57
4.2.4. Sólidos totales. ....	58
4.2.5. Ceniza.....	59
4.2.6. Proteína. ....	60
4.2.7. °Brix. ....	61
4.3. Análisis Organolépticos realizados a la bebida fermentada.....	63
4.3.1. Olor.....	65
4.3.2.Sabor.....	66
4.3.3. Color.....	66
4.3.4. Gusto ....	67
4.3.5. Textura ....	67
4.3.6. Prueba de preferencia por los panelistas.....	67

4.4. Análisis y estimación de vida útil de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional.....	68
4.4.1. pH.....	69
4.4.2. Acidez.....	70
4.4.3. Análisis de mohos y levaduras.....	71
4.5. Análisis microbiológico de las BAL y coliformes en el mucílago de cacao nacional fermentado 48 horas.....	72
4.6. Análisis de viabilidad microbiológica de las BAL en la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional.....	72
4.7. Análisis económico al mejor tratamiento de la bebida fermentada.....	74
CAPÍTULO V.....	75
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	75
5.1. Conclusiones.....	76
5.2. Recomendaciones.....	77
CAPÍTULO VI.....	78
BIBLIOGRAFÍA.....	78
CAPÍTULO VII.....	87
ANEXOS.....	87

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Composición nutricional del lactosuero. ....	13
<b>Tabla 2.</b> Aplicaciones y beneficios del lactosuero.....	15
<b>Tabla 3.</b> Ventajas del consumo de lactosuero.....	16
<b>Tabla 4.</b> Composición nutricional de la soya. ....	19
<b>Tabla 5.</b> Morfología de las bacterias. ....	27
<b>Tabla 6.</b> Condiciones meteorológicas de la Finca Experimental “La María”. ....	32
<b>Tabla 7.</b> Esquema del ANDEVA.....	35
<b>Tabla 8.</b> Esquema experimental.....	36
<b>Tabla 9.</b> Formulación para ocho litros de bebida fermentada inoculada con mucílago de cacao nacional a los diferentes tratamientos. ....	43
<b>Tabla 11.</b> Parámetros físico-químicos y sus normativas para la bebida fermentada. ....	44
<b>Tabla 12.</b> Atributos sensoriales. ....	47
<b>Tabla 13.</b> Descripción de los tratamientos en estudio. ....	50
<b>Tabla 14.</b> Parámetros iniciales de las materias primas FCP-UTEQ.2019.....	54
<b>Tabla 15.</b> Análisis físico-químicos pH, acidez (%), humedad (%), sólidos totales (%), ceniza (%), proteína (%) y °Brix de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya (Glycine max) inoculada con mucílago de cacao nacional (Theobroma cacao L.)” FCP-UTEQ.2019. ....	62
<b>Tabla 16.</b> Análisis organoléptico de los atributos: olor, color, sabor, gusto, textura de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya (Glycine max) inoculada con mucílago de cacao nacional (Theobroma cacao L.)” FCP-UTEQ.2019.....	64
<b>Tabla 17.</b> Análisis microbiológico de las BAL y coliformes en el mucílago de cacao nacional fermentado.....	73
<b>Tabla 18.</b> Análisis de viabilidad de las BAL en la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional.....	73
<b>Tabla 19.</b> Análisis económico al mejor tratamiento de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional. ....	74

## INDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1.</b> Análisis de pH en los tratamientos de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional.....	55
<b>Gráfico 2.</b> Análisis de acidez en los tratamientos de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional.....	56
<b>Gráfico 3.</b> Análisis de humedad en los tratamientos de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional.....	57
<b>Gráfico 4.</b> Análisis de Sólidos totales en los tratamientos de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional.....	58
<b>Gráfico 5.</b> Análisis de ceniza en los tratamientos de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional.....	59
<b>Gráfico 6.</b> Análisis de proteína en los tratamientos de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional.....	60
<b>Gráfico 7.</b> Análisis de °Brix en los tratamientos de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional.....	61
<b>Gráfico 8.</b> Análisis de preferencia en los tratamientos de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional.....	68

## INDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Método lineal de pH al mejor tratamiento a bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional..... 69
- Figura 2.** Método lineal del %ac.láctico al mejor tratamiento de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional..... 70
- Figura 3.** Método lineal de Mohos y levaduras al mejor tratamiento de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional..... 71

## INDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> Norma INEN 176:2006 Requisitos Mucílago de cacao. ....	88
<b>Anexo 2.</b> Norma INEN 2609:2012 Requisitos Lactosuero. ....	90
<b>Anexo 3.</b> Norma INEN 3028:2018-02 Requisitos Soya. ....	92
<b>Anexo 4.</b> Norma INEN 2608:2012 Requisitos de Bebida fermentada. ....	94
<b>Anexo 5.</b> Técnica de análisis para determinación del porcentaje de acidez y pH. ....	96
<b>Anexo 6.</b> Técnica de análisis para determinación de sólidos totales. ....	98
<b>Anexo 7.</b> Técnica de análisis para determinación de ceniza. ....	100
<b>Anexo 8.</b> Técnica de análisis para determinación de proteína. ....	101
<b>Anexo 9.</b> Formato de la evaluación sensorial y preferencia de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional. ....	104
<b>Anexo 10.</b> Análisis bromatológico de las muestras de la bebida fermentada inoculada con mucílago de cacao en diferentes niveles en el laboratorio de Química UTE.2019. ....	105
<b>Anexo 11.</b> Análisis de varianza de los parámetros físico-químicos de la bebida fermentada obtenidos del Infostat. ....	106
<b>Anexo 12.</b> Prueba no paramétrica de Kruskal- Wallis en los análisis organolépticos: olor, color, sabor, gusto, textura obtenidos del Infostat. ....	109
<b>Anexo 13.</b> Análisis microbiológico de agentes patógenos presentes en la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao en el laboratorio AGROLAB-Sto-Dgo. 2019. ....	113
<b>Anexo 14.</b> Control de pH, acidez, mohos y levaduras para la estimación de vida útil. ....	115
<b>Anexo 15.</b> Ecuaciones de la cinética de primer orden para el cálculo de tiempo de estimación de vida útil. ....	115
<b>Anexo 16.</b> Análisis microbiológico de las bacterias ácido lácticas y coliformes totales en el mucílago de cacao fermentado en el laboratorio AGROLAB-Sto-Dgo. 2019. ....	116
<b>Anexo 17.</b> Análisis de viabilidad microbiológica de las BAL en los tratamientos de la bebida fermentada inoculada con mucílago de cacao en el laboratorio AGROLAB-Sto.-Dgo. 2019. ....	117

<b>Anexo 18.</b> Análisis económico del mejor tratamiento en la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao. ....	119
<b>Anexo 19.</b> Proceso de recolección y extracción del mucílago de cacao. ....	120
<b>Anexo 20.</b> Proceso de extracción de la soya. ....	121
<b>Anexo 19.</b> Proceso de pasteurización del suero. ....	122
<b>Anexo 20.</b> Proceso de elaboración de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional. ....	122
<b>Anexo 21.</b> Análisis físico-químicos de la bebida fermentada. ....	123
<b>Anexo 22.</b> Prueba organoléptica y preferencia de la bebida fermentadas por los panelista. ....	123
<b>Anexo 23.</b> Etiqueta del producto. ....	124

## CÓDIGO DUBLIN

Título:	Bebida fermentada a base de lactosuero y soya ( <i>Glycine max</i> ) inoculada con mucílago de cacao nacional ( <i>Theobroma cacao</i> L.).
Autor:	Gema María Muñoz Mendoza.
Palabras claves:	Bebida fermentada, mucílago de cacao, soya, lactosuero, bacterias ácido lácticas (BAL), fermentación, inoculación.
Fecha de publicación:	2020
Editorial:	Quevedo UTEQ-2019.
Resumen:	<p>La presente investigación se orienta al desarrollo de una bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional al 5%, 10% y 15% mejorando así sus características organolépticas y dándole el uso adecuado a dichos subproductos, se aplicó un Diseño Completamente al azar con cuatro tratamientos y cuatro repeticiones. Para comparar las medias de los tratamientos en cuanto a los análisis físico-químicos (pH, acidez °Brix, humedad, ceniza, sólidos totales) se utilizó la Prueba de Tukey (<math>p \leq 0,05</math>) demostrando así la diferencia significativa que existía en dichos parámetros. Para el análisis organoléptico (olor, color, sabor, gusto y textura) se utilizó la Prueba de Kruskal Wallis en donde el tratamiento que más destacó fue el T3, para la prueba de preferencia el que obtuvo mayor aceptación por los panelistas fue el T3 (67%) con 15% de mucílago de cacao considerándolo el mejor tratamiento, seguido del T2 (17%) con 10% de mucílago de cacao y el de menor valor T0 (6%) sin adición de mucílago. La viabilidad microbiológica que presentó mejores valoraciones fue del T3 con un <math>4 \times 10^7</math> y el de menor valor el T0 al día 20 de almacenamiento. La vida útil del mejor tratamiento T3, se realizó mediante la ecuación de vidas medias dando como resultado 17 días de durabilidad en condiciones de refrigeración. Mediante el análisis económico realizado al mejor tratamiento T3 se establece un precio de \$0,98ctvs el litro y con una utilidad del 20%.</p>
Abstract:	<p>This research focuses on the development of a fermented drink based on whey and soy inoculated with national cocoa mucilage at 5%, 10% and 15% thus improving its organoleptic characteristics and giving the appropriate use to these by-products, a Completely random design with four treatments and four repetitions. To compare the mean of the treatments in terms of physical-chemical analyses (pH, acidity Brix, humidity, ash, total solids) the Tukey Test (<math>p \leq 0.05</math>) was used thus demonstrating the significant difference that existed in these parameters. For the organoleptic analysis (smell, color, taste, taste and texture) the Kruskal Wallis Test was used where the treatment that most stood out was T3, for the test of preference that obtained the greatest acceptance by the panelists was the T3 (67%) with 15% cocoa mucilage considering it the best treatment, followed by T2 (17%) with 10% cocoa mucilage and the lowest T0 value (6%) without the addition of mucilage. The microbiological feasibility that showed the best ratings was T3 with a <math>4 \times 10^7</math> and the lowest value T0 to day 20 of storage. The lifespan of the best T3 treatment was performed by the half-life equation resulting in 17 days of durability in cooling conditions. The economic analysis carried out at the best Treatment T3 establishes a price of \$0.98ctvs per litre and with a utility of 20%.</p>
Descripción:	145 hojas: dimensiones 29 x 21 cm + CD-ROM 6162
URL:	

## INTRODUCCIÓN

El uso adecuado de los desechos, residuos o subproductos que se originan por parte de las industrias de alimentos corresponde a los acontecimientos que se han suscitado a lo largo de los años en las industrias queseras por su desperdicio. En la actualidad se considera una de las investigaciones más importantes en el desarrollo de esta industria (1).

El lactosuero es rico en proteínas, especialmente lactoalbúminas, lactoglobulinas y minerales se obtiene de la fabricación de quesos conteniendo una gran cantidad de nutrientes, lo cual hace a este subproducto una materia prima interesante para alternativas de fabricación de productos aumentando su valor nutritivo, en este caso el lactosuero ha sido utilizado para la elaboración de una bebida fermentada del mismo con soya inoculada con mucílago de cacao nacional (2).

La concentración de proteínas del lactosuero contiene fracciones tales como lactoalbúmina, lactoferrina, lactoperoxidasas y péptidos, sustancias que poseen propiedades dirigidas a beneficiar el estado de salud. Algunas de estas fracciones están siendo consideradas como antibióticos naturales por su capacidad de preservar naturalmente a los alimentos (2). El suero ha sido utilizado para la elaboración de bebidas fermentadas con acidez final del 0,54% de ácido láctico para los consumidores son las de mayor aceptabilidad (3,4).

La soya es un producto de alto valor biológico utilizado principalmente en la fabricación de alimento animal, siendo muy poco su uso en las industrias alimentarias lo que conlleva a varias alternativas siendo una de ellas la bebida fermentada (5). Actualmente se han dado crecimientos rápidos en Sudamérica con una producción del 123% la cual no muestra signos de parar de acuerdo con la FAO (Organización de las Naciones unidas para la Alimentación y a Agricultura) sugiere que la producción se duplicara para el 2050 (6), ha sido considerada uno de los descubrimientos más importantes en nutrición, aparte de su contenido de calcio, el grano de soya es el único de origen vegetal de igual calidad que la de proteína animal (7).

El cacao nacional (*Theobroma cacao* L.) es el de mayor exportación en los países Europeos, posee características que lo hacen propio y diferente a los producidos en otras regiones del mundo. Actualmente el material mucilaginoso desaprovechado en su totalidad lo que

conlleve alternativas de su uso (8). Las BAL provenientes del mucílago de cacao, tienen características que al ser procesadas producen ácido láctico, son empleadas actualmente por las industrias alimentarias en la elaboración de bebidas fermentadas, yogurt, vino, embutidos, entre otros (9). La incorporación de estos microorganismos en el desarrollo de nuevos productos de derivados lácteos, logra brindar características sensoriales y extender la vida útil del producto final (1,3,4).

La fermentación del mucílago de cacao a las primeras 24 horas se instalan las bacterias lácticas y acéticas, especialmente las (BAL) de género *Lactococcus spp* donde comienza su incremento, luego empiezan la del género *Enterococcus spp* y es así que a las 48 horas se obtienen el máximo de su incremento (9).

Por esa razón, el presente trabajo se trazó como objetivo desarrollar una bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional rico en bacterias ácido lácticas.

**CAPITULO I**  
**CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN**

## **1.1. Problema de la investigación.**

### **1.1.1. Planteamiento del problema.**

En la industria quesera el lactosuero es un subproducto de la elaboración de queso, considerado como un potente contaminante biológico que no se industrializa por el desconocimiento e inclusive por falta de tecnología, son numerosas las alternativas de utilización del mismo pero pocas las empresas que lo aprovechan, el objetivo de elaborar esta bebida fermentada generaría un valor agregado a este subproducto por ser considerado un desecho por muchos productores de queso a nivel nacional.

Por otro lado, la soya se utiliza principalmente para fabricar alimento animal de cría industrial, para producción de biodiesel y en la industria alimentaria para la obtención de aceite comestible y harina, sin embargo, la parte que se destina al proceso de productos proteicos de alimentación humana es pequeña. Actualmente en el Ecuador la provincia de mayor productividad es Guayas ya que posee características superiores al nivel nacional en factores como uso de semilla certificada, lo cual conlleva a alternativas de uso agregándola a esta bebida fermentada ayudará al crecimiento de producción de la misma.

El limitado aprovechamiento y desconocimiento de la actividad microbiológica del mucílago de cacao por parte de los pequeños y medianos productores conlleva a un desperdicio total, se les dificulta porque no cuentan con recursos económicos y tecnológicos para realizar dicho procedimiento, por esta razón se pierde la oportunidad de posibles usos industriales e indirectamente afecta al crecimiento socio-económico del país.

### **Diagnóstico.**

En la actualidad el material más contaminante, es el lactosuero por su alto contenido orgánico ya que por cada litro genera aproximadamente una demanda bioquímica de oxígeno (DBO) de 40,000 a 60,000mg/L, estos valores son 100 veces mayores que la descarga de aguas residuales de una familia promedio, es un subproducto que contiene el 25% de las proteínas de la leche, el 8% de la materia grasa y cerca del 95% de lactosa los mismos que

equivalen a los requerimientos diarios de proteína y energía, a pesar de sus nutrientes es desperdiciado por las industrias lácteas (10).

Según el Centro de la Industria Láctea (CIL) en el Ecuador, desde el 2005 se crearon bebidas que usaban el suero, pero como no había ninguna norma, las cantidades usadas de este ingrediente eran libres, lo que derivó a una situación caótica, por ende el gobierno adoptó normas alimentarias, directrices y códigos de prácticas internacionales del Codex Alimentarius de la Organización de las Naciones Unidas para la alimentación (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) es así como se generaron las primeras normas INEN del 2011 y 2012.

Entre las aplicaciones que tienen la soya a nivel de bebidas, se encuentran las mal llamadas leches de soya que actualmente son las de mayor consumo, esto dependerá de la clasificación en donde ésta es incluida. Ésta leguminosa se convierte en el foco actual de las investigaciones por el contenido de proteínas que posee (5).

El mucílago de cacao presenta muchas potencialidades, sin embargo, actualmente los cacaoteros ecuatorianos dependen únicamente de la venta de almendras de cacao, esto significa que apenas utilizan el 20% del fruto y el resto se desecha. De la parte restante, cerca del 80% comprendido entre mazorca, mucílago y placenta son recursos desaprovechados que al ser eliminados en su totalidad se convierte en un problema ambiental, lo que traduce en pérdidas económicas para el agricultor (11).

## **Pronóstico.**

Al elaborar esta bebida fermentada se estaría dando la oportunidad de disminuir el desperdicio del lactosuero en las industrias queseras, agregándole un mayor valor nutricional, por consiguiente, al utilizar la soya se ofrecería al consumidor una solución de nutrición. De manera que al aprovechar el mucílago de cacao nacional como inóculo brindará características organolépticas idóneas, al elaborar esta bebida enriquecida con estas materias primas da una alternativa de alimentación sana debido a la tendencia del consumo masivo de bebidas, aportando así al desarrollo del ámbito industrial.

### **1.1.2. Formulación del problema.**

¿Cuál sería el nivel de mucílago de cacao adecuado para obtener una bebida fermentada que presente características físico-químicas, organolépticas y microbiológicas aceptables, que se encuentren dentro de las normas establecidas para el consumo humano?

### **1.1.3. Sistematización del problema.**

¿Cuáles serán los parámetros físico-químicos y organolépticos que se analizarán en la bebida fermentada inoculada con mucílago de cacao nacional en diferentes niveles (5% 10% y 15%)?

¿Cómo se logrará determinar la viabilidad de las bacterias ácido lácticas (BAL) a las bebidas fermentadas?

¿Cómo se estimará el tiempo de durabilidad del mejor tratamiento de la bebida fermentada?

¿Cómo se calculará el costo de producción al mejor tratamiento de la bebida fermentada?

## **1.2. Objetivos.**

### **1.2.1. Objetivo General.**

- Desarrollar una bebida fermentada a base de lactosuero y soya (*Glycine max*) inoculada con mucílago de cacao Nacional (*Theobroma cacao* L.).

### **1.2.2. Objetivos Específicos.**

- Analizar los parámetros físicos-químicos y organolépticos a la bebida fermentada inoculada con mucílago de cacao Nacional en diferentes niveles (5% 10% y 15%).

- Estimar la durabilidad del mejor tratamiento en función a los análisis físico-químicos y microbiológicos de agentes patógenos, presentes en la bebida fermentada inoculada con mucílago de cacao Nacional.
- Determinar la viabilidad de las bacterias ácido lácticas (BAL) provenientes del mucílago de cacao Nacional en la bebida fermentada.
- Calcular el costo de producción al mejor tratamiento de la bebida fermentada.

### **1.3. Justificación.**

La presente investigación se realizó con la relevante importancia del aprovechamiento de subproductos como el lactosuero al ser el más desperdiciado a nivel nacional por industrias queseras y su posibilidad de múltiples usos, las presentaciones líquidas como las bebidas se aprovechan en mayor cantidad con un límite del 90% siendo esta una gran ventaja para su consumo. La soya a su vez proporciona beneficios para la salud, mejorando la nutrición logrando así que se genere demanda del grano de soya a través de este producto, el mismo puede influir positivamente a la economía agrícola.

Por otro lado, la iniciativa de inocular esta bebida fermentada con mucílago de cacao nacional (*Theobroma cacao L.*) es para asegurar sus características organolépticas.

De manera que la presente investigación aportará al desarrollo de industrias queseras, productores de soya e inclusive al sector cacaotero.

**CAPÍTULO II**  
**FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN**

## 2.1. Marco Conceptual.

- **Bebida fermentada.**

Son bebidas cuyo procesamiento involucra el crecimiento o actividad de microorganismos, esta actividad de fermentación permite que los alimentos modifiquen su sabor al mismo tiempo que aumente su vida útil permitiendo su conservación (12).

- **Lactosuero.**

Es un subproducto líquido remanente de la coagulación de la leche obtenido después de la precipitación de la caseína durante la elaboración de quesos, contiene lactosa, proteínas, minerales, vitaminas y grasa, , este varía del tipo de leche, de queso en el proceso de tecnología empleada (13).

- **Soya.**

La soya (*Glycine max*), es una planta alimenticia que produce una semilla, como el girasol u otras oleaginosas, es originaria del este de Asia donde ha sido utilizada en la alimentación humana desde hace más de 4000 años (14).

- **Mucílago de cacao.**

Es una sustancia orgánica viscosa que cubre la almendras del cacao que se forma dentro de la mazorca, de color blanco, aromática, rica en azúcares, sabor tropical y suficientemente ácida, condiciones excelentes para el desarrollo de microorganismos, durante la fermentación por levaduras y bacterias lácticas que fermentan los azúcares produciendo ácido láctico (9).

- **Bacterias ácido lácticas (BAL).**

Son un grupo de microorganismos representadas por varios géneros con características morfológicas, fisiológicas y metabólicas en común, son cocos o bacilos Gram positivos,

producen ácido láctico como el único o principal producto de la fermentación de carbohidratos, son ácidos tolerantes a valores tan bajos de pH como 3,2, altos como 9,6, y la mayoría crece a pH entre 4 y 4,5 permitiéndose sobrevivir naturalmente (15).

- **Fermentación.**

Proceso en donde los microorganismos utilizan la energía positiva de la acumulación de cambios bioquímicos que sufren las sustancias orgánicas, la misma que utiliza para el desarrollo de su metabolismo, transforman los azúcares simples en gases, ácidos y alcohol (9).

- **Inoculación.**

Es la introducción artificialmente una porción de muestra (inóculo) en un medio adecuado, con el fin de iniciar un cultivo microbiano, para su desarrollo y multiplicación, el cual se incuba a una temperatura adecuada de crecimiento (16).

## 2.2. Marco Referencial.

### 2.2.1. Bebidas fermentadas.

### 2.2.2. Fermentación.

La fermentación es un proceso catabólico de oxidación completa, totalmente anaeróbica, siendo el producto final un compuesto orgánico. Las fermentaciones pueden ser naturales, cuando las condiciones ambientales permiten la interacción de los microorganismos o artificiales cuando el hombre favorece condiciones y el contacto es directo (17).

### 2.2.3. Tipos de fermentación.

Existen diversos tipos de fermentación entre ellos tenemos:

- **Fermentación acética.-** Fermentación por acetobacter, un género de las bacterias aeróbicas transforman el alcohol en ácido acético (17).
- **Fermentación alcohólica.-** Es la fermentación en plena ausencia de aire, originado por la actividad de microorganismos que procesan los hidratos de carbono por lo general los azúcares, obteniendo un alcohol en forma de etanol (17).
- **Fermentación butírica.-** Es la conversión de los glúcidos en ácido butírico por acción de las bacterias *Clostridium butyricum* en ausencia de oxígeno, se produce a partir de la lactosa con formación de ácido butírico y gas (17).
- **Fermentación láctica.-** La fermentación láctica causada por algunos hongos y bacterias. El ácido láctico más importante que produce las bacterias es el *Lactobacillus*, entre otras. La fermentación es usada en todo el mundo para producir variedades de alimentos (panes fermentados, leches fermentadas, arroz fermentado, cereales, yogurt, etc.) (17).

#### **2.2.4. Lactosuero.**

El lactosuero o suero de leche se considera como un subproducto lácteo obtenido de la separación del coágulo de la leche, de la crema o de la leche semidescremada durante la fabricación de queso, que rompe el sistema coloidal de la leche en dos fracciones: sólida y líquida en consecuencia, el suero no forma parte integral de la leche de vaca por ser una fracción de la misma. Sin embargo el valor nutricional del suero es favorable y brinda alternativas de uso, contribuyendo de alguna manera el consumo de calcio posiblemente más asequible para las personas en productos fortificados o suplementos (18).

#### **2.2.5. Tipos fundamentales de lactosuero.**

Existen tres tipos de suero:

- a) Suero dulce.- proviene de la coagulación enzimática (renina) contiene más lactosa, es conveniente para todas las utilidades o transformaciones, su acidez es de  $\text{pH} > 5.8$  (19).
- b) Suero medio ácido.- es obtenido al separarse la caseína por acidificación y su acidez es de  $\text{pH} 5.8-5.0$  (10).
- c) Suero ácido.- proviene de la coagulación ácida de la fabricación de quesos frescos o de pasta blanda, se obtiene por acción ácida, con mayor concentración de proteínas, su contenido de lactosa se reduce a causa de la fermentación láctica (ácido láctico), su acidez es de  $\text{pH} < 5.0$  (19).

#### **2.2.6. Composición nutricional del lactosuero.**

La composición nutricional del lactosuero puede variar considerablemente dependiendo de las características de la leche, el tipo de queso a producir, la tecnología empleada en la elaboración de queso. El suero de leche contiene más de la mitad de sólidos presentes en la leche original, alrededor del 20% de las proteínas (lactoalbúminas y lactoglobulinas), la mayor parte de lactosa, minerales (calcio, fósforo, sodio y magnesio) y vitaminas

hidrosolubles (tiamina, ácido pantoténico, riboflavina, piridoxina, ácido nicotínico, cobalamina y ácido ascórbico) Ver Tabla 1 (20).

**Tabla 1.** *Composición nutricional del lactosuero.*

<b>Componente (g/L)</b>	<b>Suero de leche dulce</b>	<b>Suero de leche ácido</b>
<b>Sólidos totales</b>	63.0 - 70.0	63.0 - 70.0
<b>Lactosa</b>	46.0 - 52.0	44.0 - 46.0
<b>Grasa</b>	0.0 - 5.0	0.0 - 5.0
<b>Proteína</b>	6.0 - 10.0	6.0 - 8.0
<b>Calcio</b>	0.4 - 0.6	1.2 - 1.6
<b>Fósforo</b>	0.4 - 0.7	0.5 - 0.8
<b>Potasio</b>	1.4 - 1.6	1.4 - 1.6
<b>Cloruros</b>	2.0 - 2.2	2.0 - 2.2

**Fuente:** Hernández R y Vélez Ruiz 2014 (20).

**Elaborado por:** Gema Muñoz 2019.

Las proteínas del suero con mayor importancia en la leche son:

- **$\alpha$ -lactoalbúmina:** constituye el sistema enzimático para la síntesis de la lactosa, no posee sulfhidrilos libres pero sí cuatro disulfuros que ceden las cistinas, por lo que tiene 2.5 más azufre que la caseína. Posee bajo peso molecular y un alto contenido en triptófano, los animales cuyas leche no presentan esta proteína tampoco contienen lactosa (10).
- **$\beta$ -lactoglobulina:** Insoluble en agua destilada y soluble en disoluciones de sales, se desnaturaliza a 73°C (10). Presenta la mitad de las proteínas totales del suero está compuesta por 162 aminoácidos residuales, 84 de estos son esenciales, es capaz de fijar moléculas hidrófobas como colesterol y retinol, presenta alta resistencia a la digestión en seres humanos, sin embargo los tratamientos industriales como esterilización y pasteurización mejoran la digestibilidad (20).
- **Inmunoglobulinas:** suman el 10% del total de las proteínas del suero y provienen de la sangre del animal, proceden de las células plasmáticas del tejido conjuntivo de

la madre, por esta razón la leche permite transmitir cierta inmunidad a la cría, suelen ser muy abundantes en el calostro (10).

### **2.2.7. Aplicaciones y beneficios del lactosuero en alimentos.**

La utilización del lactosuero en la industria láctea es producido a nivel mundial es tratado y transformado en productos alimenticios, el 45% es utilizado en forma líquida, el 30% se deshidrata para su uso en polvo, el 15% se industrializa para extraer lactosa y el resto para concentrado proteico de LS en polvo (21).

En países como Nueva Zelanda y Japón la utilizan para elaborar fórmulas lácteas, pastas dentífricas, alimentos nutracéuticos, pomadas antifungicas y en la industria cosmetológica. Además se aprovecha en panadería, postres, bebidas, alimentos dietéticos, entre otros (21).

Debido a sus propiedades nutricionales y funcionales el lactosuero se ha convertido en un materia prima conveniente para obtener deferentes productos a nivel tecnológico. Se ha establecido que es posible trasferir diversas propiedades funcionales identificadas en el suero de leche a nuevos productos alimenticios. Por este motivo se incrementará el uso de proteínas de suero de leche como ingredientes en alimentos fisiológicamente funcionales (20). En la tabla 2, se describen las aplicaciones del lactosuero detallando el beneficio y función de cada uno de ellos.

**Tabla 2.** *Aplicaciones y beneficios del lactosuero.*

<b>Aplicaciones en</b>	<b>Beneficios</b>
<b>Productos de panadería</b>	Incrementa el valor nutricional, funciona como emulgente, reemplaza al huevo, da forma a la masa.
<b>Quesos</b>	Aumenta el valor nutricional, funciona como gelificante y emulgente, mejora las propiedades organolépticas, mejora la consistencia.
<b>Bebidas</b>	Incrementa el valor nutricional, mejora la: solubilidad, estabilidad coloidal.
<b>Postres</b>	Funciona como emulgente, da forma y textura a los productos
<b>Confitería</b>	Facilita el batido y funciona como emulgente
<b>Productos cárnicos</b>	Funciona como pre-emulgente, gelificante, mejora la solubilidad.
<b>Otros</b>	Alimentos de mayor valor nutricional y bajo costo, fórmulas nutricionales para mantener el peso o aumentar el consumo de proteína para personas de tercera edad, formulas especiales para infantes para alimentación hospitalaria.

**Fuente:** Poveda E. 2013 (18).

**Elaborado por:** Gema Muñoz 2019.

### **2.2.8. Ventajas de consumir lactosuero en diferentes etapas.**

La evidencia científica ha demostrado diversos beneficios del consumo de lácteos o derivados durante el embarazo y la lactancia favoreciendo al desarrollo óseo del feto, el aumento del consumo de lácteos se ha vinculado a la reducción del riesgo de numerosos problemas de salud en los niños, ya que el requerimiento diario de calcio es bastante elevado en esta etapa. En el caso de la población adulta mayor las recomendaciones oscilan entre 800 y 1500mg de calcio diarios (22).

El consumo de lactosuero se describe a la tabla 3, detallando cada una de las etapas de consumo y ventajas de las mismas.

**Tabla 3.** *Ventajas del consumo de lactosuero.*

<b>Etapas</b>	<b>Ventajas</b>
<b>Niños</b>	Contribuye al desarrollo físico y mental, fortalece las defensas para mayor resistencia, protege su aparato digestivo de otros productos menos nutritivos.
<b>Jóvenes</b>	Permite un excelente desarrollo intelectual, brinda energía natural, proporciona nutrientes.
<b>Deportistas</b>	Ayuda a preservar la elasticidad de los tejidos, promueve la masa muscular de forma natural, combate los radicales libres causados por el ejercicio, fortalece los huesos.
<b>Mujeres</b>	Cubre necesidades durante el embarazo, aligera los trastornos hormonales ocasionados por la menopausia, mejora el rendimiento de las actividades.
<b>Hombres</b>	Incrementa la energía, reduce el cansancio, la tensión el estrés, promueve a través del selenio y el zinc una mejor vida sexual.
<b>Personas Mayores</b>	Mejoran la agudeza mental, su contenido de calcio fortalece los huesos, dientes, estimula el sentido del gusto, incrementa la inmunidad contra enfermedades y reduce la fatiga y el estrés.

**Fuente:** Villacís M. 2012 (10).

**Elaborado por:** Gema Muñoz 2019.

### **2.2.9. Investigaciones realizadas con lactosuero.**

Según *Guevara et al*, (23) en su trabajo de investigación *elaboración de yogurt a partir de suero de leche*, demuestra ser una óptima alternativa de utilización industrial para el

aprovechamiento y comercialización del suero de leche, la misma que es identificada como una fuente de vitaminas y proteínas beneficiosas para el ser humano.

Por otro lado *Hernández et al*, (20) en su trabajo *suero de leche y su aplicación en la elaboración de alimentos funcionales*, indica que las proteínas del suero de leche son utilizadas en alimentos funcionales como bebidas fortificadas, formulas infantiles, batidos de suero, el objetivo principal de este artículo es hacer la revisión sobre la aplicación de este subproducto y sus proteínas.

De acuerdo a *Chóez et al*, (24) en su trabajo *Elaboración de una bebida hidratante a base de lactosuero y enriquecida con vitaminas*, es importante para las industrias del sector lácteo como alimento al aprovechar las propiedades nutricionales que ofrece el lactosuero para la elaboración de dicha bebida, la cual se llevó a cabo mediante pruebas experimentales, pruebas físico-químicas, microbiológicas y sensoriales.

También *Altamirano C*, (2) en su investigación de *elaboración de una bebida fermentada a base de suero láctico con pulpa de manzana Emilia*, señala los beneficios de la bebida fermentada favoreciendo y evitando problemas gastrointestinales en la personas mayores adultas, la bebidas con suero y frutas ayuda a depurar e organismo como fuente alternativa de energía.

### **2.2.10. Soya.**

La soya originaria del norte y centro de china, ha sido y continua siendo un alimento milenario de los pueblos de oriente, una de las cinco semillas sagradas junto con el arroz, el trigo, la cebada, y el mijo es una legumbre de ciclo anual, pertenece a la familia de la Papilionáceas, en otros países que las conocen popularmente como soya (Portugal, Francia e Inglaterra), soia (Italia) y sojabohne (Alemania) (25).

Durante miles de años se ha cultivado en Asia, pero en el último siglo se ha expandido considerablemente, los últimos 50 años la producción de soya aumentado diez veces, de 27 a 268 millones de toneladas cubriendo los países como Francia, Alemania, Bélgica y los Países bajos (6).

Es una legumbre de ciclo anual originaria del norte y centro de China, su nombre científico es *Glycine max*, pertenece a la familia de las papilionáceas, alcanza entre 0,50 y 1,5 metros de altura, posee hojas grandes, trifoliadas y pubescentes, sus flores son pequeñas de color blanco- amarillento. Esta planta herbácea contiene en su interior entre uno y cuatro granos con un 20% de aceite, los chinos la consideran una de las cinco semillas sagradas con el arroz, el trigo, la cebada y el mijo (25).

Es la fuente más abundante y valiosa de proteínas vegetales, cuenta con un adecuado contenido de aminoácidos esenciales que representan beneficios importantes para la salud, entre ellos la capacidad de reducir los niveles de colesterol en la sangre. Sin embargo, la soya contiene varias sustancias biológicamente activas que pueden interferir con la digestibilidad proteica. Por lo cual se debe aplicar un tratamiento térmico durante su proceso y que esto permite una mejor utilización de la proteína en nuestro organismo (26).

### **2.2.11. Cultivo y cosecha.**

Según el Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias la variedad INIAP 310 a través del Programa nacional de Oleaginosas es considerada una semilla de alto rendimiento y calidad (27).

En Ecuador la siembra de esta oleaginosa se dio con variedades introducidas de Colombia y Estados Unidos, es la oleaginosa de ciclo corto más importante del Litoral ecuatoriano, cultivándose cerca de 40,000 hectáreas anualmente, el 10% de esas se cultivan durante la época lluviosa y el resto en la época seca, cubriendo así, principalmente, la demanda de alimentos balanceado para animales. De acuerdo al INIAP, las condiciones de cultivo de soya en el Ecuador son entre 400 a 600mm de lluvia durante el ciclo de la planta, 12 horas de luz al día y debe encontrarse en una temperatura de 22 a 30 °C, con un pH que se encuentre entre 5,5 a 7,00 (28).

La cosecha de esta planta se puede utilizar ya sea como vegetal u oleaginosa, por su fácil cocción, mayor tamaño, su contenido de proteínas, pueden ser consumidas como semillas de

soya o procesados para la obtención de derivados como leche de soya, salsa de soya y harina e inclusive en productos no comestibles tales como ceras y biodiesel (28).

### 2.2.12. Composición nutricional de la soya.

En la tabla 4 se observan los principales componentes de la soya como los nutrientes, vitaminas y minerales los mismo que se encuentran en cantidades de 100 g.

**Tabla 4.** *Composición nutricional de la soya.*

COMPONENTES	CANTIDAD EN 100 G
<b>NUTRIENTES</b>	
Proteína	30g
Aceites	26g
Fibras	0,5g
Cenizas	5g
Carbohidratos	35,5g
Humedad	3g
<b>VITAMINAS</b>	
Vitamina A	1.500 UI
Vitamina D	400UI
Vitamina E	2UI
Vitamina B1	0,5 mg
Vitamina B2	0,8 mg
Vitamina PP	9 mg
Vitamina B12	0,9 mg
Vitamina C	20 mg
Ácido fólico	100 mcg
<b>MINERALES</b>	
Calcio	400 mg
Fósforo	200 mg
Hierro	5mg
Yodo	0,1 mg

**Fuente:** Ampuero E. 2014 (27).

**Elaborado por:** Gema Muñoz 2019.

### **2.2.13. Investigaciones relacionadas con la soya.**

El consumo de bebidas a base de soya se ha incrementado considerablemente ya que se han desarrollado tecnologías de procesamiento que mejoran las cualidades sensoriales de la misma, de la mayoría de productos con soya, las más consumidas son las bebidas. Los últimos 5 años en norte América se ha incrementado el consumo un 25% cada año. La mezcla de soya con frutas se encuentra en gran aceptación por el consumidor, lo que genera un desarrollo e la soya (5).

*Jiménez, (29)* en su investigación *Composición y Procesamiento de la Soya para Consumo Humano*, indica que la soya se utiliza para fortificar productos a base de cereales, el aceite en la industria de alimentos sobresale por su contenido elevado de ácido linoléico, la mejor manera de procesar el frijol para determinar las características finales de los productos como harinas, aislados de proteínas, salvados, bebidas, es al ser sometido a temperatura esto sirve para mejorar el sabor y aumentar el valor nutritivo

De acuerdo con *Rocha y Coy, (30)* en su trabajo *Elaboración de una bebida a base de leche de soya y ahuyama fortificada con hierro y calcio, para adultos mayores*, indica que es una estrategia efectiva para prevenir y controlar las deficiencias de hierro y calcio en los adultos mayores, la bebida a base de soya es de gran importancia ya que es poco común aporta nutrientes indispensables para los mismos, siendo fortificada basándose en los hábitos alimenticios y estado de salud del consumidor al cual se dirige.

También *García, (31)* en su trabajo de investigación de *Bebidas Vegetales*, se centra en el estudio de los diferentes nutrientes y compuesto bioactivos de la leche de vaca frente a 4 tipos de bebidas vegetales entre ellas la soya, se puede afirmar actualmente que las bebidas vegetales poseen beneficios para la salud superiores a los de la leche, esto se refiere al producto final mas no a la materia prima, ya que son pocos los estudios comparados de la leche de vaca con bebidas vegetales, hasta que existan investigaciones con evidencia científica y sólida de tener cuidado en consumir bebidas vegetales, son alternativas de consumo a las personas que son intolerantes a las lactosa y alérgicos a las leche de vaca.

#### **2.2.14. Historia del cacao nacional.**

El cacao nacional es un fruto tropical localizado especialmente en el Litoral y en la Amazonía, se centraliza en la provincia de los Ríos, Guayas, Manabí y Sucumbíos. En el Ecuador se cultiva dos variedades de cacao CCN-51 y el denominado Cacao Nacional de origen forastero (8). El nombre científico del cacao es *Teobroma cacao* L, de la familia de las Esterculiáceas cuyo nombre procede de la expresión “xocolat” de los Mayas, en la lengua nahua como la expresión cacáhua significado “alimento de los Dioses”. Esto detona en el origen geográfico y el uso alimenticio ancestral del fruto (32).

El árbol de cacao nacional es de tamaño mediano a bajo, puede alcanzar alturas hasta 20m, su tronco se puede desarrollar de forma muy variada, es producido de forma clonal, a distancia de siembra de 4x4 m dependiendo de las condiciones medioambientales y altitud (33).

#### **2.2.15. Mucílago de cacao nacional.**

Es una sustancia viscosa, generalmente hialina, que contiene las plantas de cacao la mazorca de cacao contiene alrededor de 30 - 50 almendras. El tamaño y forma de las almendras es una característica varietal, son cuerpos aplanados elipsoidales de 2 a 4 cm de largo, rodeada por una envoltura blanca y azucarada y compuesta principalmente por parénquima (33).

#### **2.2.16. Composición del mucílago de cacao nacional.**

La pulpa mucilaginosa está compuesta por células esponjas parenquimatosas, rica en azúcares (10-13%), pentosas (2-3 %), ácido cítrico (1-2%), y sales (8 – 10%), tiene un delicioso sabor tropical (33).

Los valores de los parámetros físico-químicos del mucílago de cacao nacional reportados por *Vallejo et al*, (34) presenta una humedad (82,5%), Acidez (0,71%), pH (3,7), °Brix (15), proteína (0,87%) y una densidad (1,0044).

### **2.2.17. Investigaciones relacionadas con mucílago de cacao nacional.**

*Vallejo et al*, (34) en su trabajo de investigación *Utilización del mucílago, tipo nacional y trinitario, en la obtención de jalea*, evaluó el efecto de tres formulaciones para jaleas obtenidas a partir de mucílago de cacao, sobre sus características físico-químicas y organolépticas, valorando microbiológicamente al mejor tratamiento, utilizando las dos variedades de cacao y tres formulaciones de azúcar con pectina (35, 40,45 azúcar + 0.5% pectina).

De acuerdo con *Caballero y Orozco*, (35) en su *Proyecto de factibilidad de la industria productora de Licor, Zumo y mermelada de mucílago de cacao*, plantea un estudio de factibilidad para la creación de una planta productora de zumo, mermelada y licor de mucílago de cacao que se desarrollara en la ciudad de Guayaquil, con el objetivo de dar uso y valor agregado un subproducto del cacao en la actualidad considerado un desperdicio por completo, generando ingresos no solo al fabricante, sino a los agricultores y personas cercanas a este proyecto.

*Rojas y Rojas*, (36) en su trabajo *Aprovechamiento del mucílago de cacao en la formulación de una bebida no alcohólica*, fue realizado con el objetivo de emplear el mucílago de cacao en la formulación de una bebida no alcohólica, así como caracterizar microbiológica, físico-química y sensorialmente el mucílago de cacao, ya que en la actualidad existe la preocupación del consumo de bebidas no alcohólicas, tales como las gaseosas, refresco y jugos, que son elaboradas con materias primas sintéticas.

### **2.2.18. Bacterias ácido lácticas (BAL).**

Las bacterias ácido lácticas fueron descubiertas por el profesor Luis Pasteur en el año de 1857, tras sus investigaciones de descomposición y acidificación del vino, observando que esto se sucedía por el ácido láctico, producto de la fermentación de ciertos microorganismos. El término "*Bacterium acidi*" bacterias que forman leche acida a partir del azúcar de la leche propuesto por Welgmann (37).

Las BAL tienen en común la elaboración de ácido láctico como producto primordial, son microorganismo Gram positivo. Debido a su limitada capacidad biosintética son muy exigentes nutricionalmente por lo que requieren para su crecimiento aminoácidos, purinas, vitaminas y pirimidinas. Los géneros de bacterias que comprende este grupos son los *lactococcus*, *vagococcus*, *leuconostoc*, *periococcus*, *aerococcus*, *tetragenococcus*, *streptococcus*, *enterococcus*, *Lactobacillus*, *weissella* y *carnobacterium* (37) .

Las bacterias ácido lácticas como *Lactococcus spp* y *Enterococcus spp* se la encuentra en el mucílago de cacao EET-103 conocido como cacao nacional, su crecimiento máximo se logra a partir de las 48 horas de fermentación del mucílago, las *Lactococcus spp* se presenta en forma coco-bacilar y las *Enterococcus spp* de forma de coco (8).

### **2.2.19. Características de las BAL.**

Las BAL poseen varias características entre ellas ecológicas y metabólicas que son de gran importancia tecnológica y económica, su clasificación se basa en la morfología, la forma de fermentar la glucosa, su desarrollo a diferentes temperaturas, la configuración del ácido láctico, concentraciones de sal, tolerancia a la alcalinidad y acidez. Debido a sus características las mismas al ser procesadas y multiplicadas para su uso como grupo comprende un caldo de bacterias fermentadoras y productoras (8).

### **2.2.20. Importancia de las BAL.**

Las BAL al tener la función de fermentar y producir ácido láctico son de gran importancia para la industrias alimentaria brindando así cualidades únicas y también la ventaja de protegerlos contras otro microorganismo dañinos e incrementar su vida útil, el uso más común de estos microorganismos, es la industrias láctea en productos tales como el queso, yogurt, mantequilla, entre otros (4,8).

Todas las bacterias son consideradas anaerobias aerotolerantes, al contrario de las anaerobias estrictas, no son sensibles al oxígeno por lo que pueden crecer tanto en ausencia como en presencia del mismo. La mayoría son mesofilicas, sin embargo algunas son capaces de crecer

a temperaturas de 5°C y otras a 45°C, tolerando concentraciones muy altas de ácidos y valores de pH más bajos que otro tipo de bacterias (37).

### **2.2.21. Clasificación de las BAL.**

Las BAL pertenecen al grupo heterogéneo que comprende alrededor de 20 géneros, los que tienen mayor incidencia en los alimentos son los *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Vagococcus*, *Carnobacterium*, *Weissella* y *Aerococcus* (38).

#### **2.2.21.1. Streptococcus.**

Es un coco Gram-positivo que se agrupa en cadenas, con forma esférica u ovoide de 0.8 – 1.2 µm, es ubicuo en la naturaleza crece en condiciones anaeróbicas o microaerofilicas, posee cápsula y su pared está constituida por carbohidratos, proteínas ácido lipoteicoico (39).

#### **2.2.21.2. Enterococcus.**

Son células esféricas u ovoides, de tamaño 0,6-2 x 0,6-2,5 µm son cocos Gram-positivos, son anaerobios facultativos, quimiorganotrofos con metabolismo fermentativo con producción principalmente de ácido láctico pero no de gas, producen un pH final de 4,2-4,6, crecen en un caldo de cultivo a 10°C y 45°C, aunque el crecimiento óptimo es de 37°C. Sobreviven después del calentamiento a 60°C durante 30 minutos (40).

#### **2.2.21.3. Pediococcus.**

El género *Pediococcus* fue descrito por Claussen en 1903 son bacterias microaerofilicas o anaeróbicas facultativas y homofermentativas es decir n convierten la glucosa en ácido láctico sin producción de CO<sub>2</sub>, se presentan en pares o tétradas, siendo las únicas BAL con forma de coco que se dividen a lo largo de dos planos de simetría, su tamaño es de 0.6-1,0 µm, su temperatura óptima de crecimiento se encuentra entre 25 y 40°C aunque algunas a 50°C (41).

#### **2.2.21.4. Lactobacillus.**

Comprenden a un grupo heterogéneo de microorganismos de cocobacilos o bastones bajo contenido de bases Gram-positivo, conocidas por su uso y preservación de alimentos como la leche, carne, verduras y panes, producen pH 4,0 en alimentos a menudo suprimen el crecimiento o matan a otras bacterias (42).

#### **2.2.21.5. Lactococcus.**

Es una bacteria ácido láctica porque fermenta el azúcar de la leche y la transforma en ácido láctico, son células esféricas u ovoides de 1,2  $\mu\text{m}$  por 1,5  $\mu\text{m}$ , se forman en pares y cadenas cortas, son Gram-positivos no móviles y no forman esporas, esta bacteria es esencial en la industria alimenticia donde se emplea fermentación para la obtención de productos derivados de la leche como el queso, yogurt, mantequilla, entre otros (43).

#### **2.2.21.6. Leuconostoc.**

Leuconostoc es una bacteria láctica heterofermentante que cumple un rol muy importante en la producción de compuestos de aroma (diacelo, alcoholes y acetoína), en producción de lácteos fermentada como crema, manteca, quesos, su función es fundamental en quesos azules (44).

#### **2.2.21.7. Vagococcus.**

Son bacterias Gram-positivas, con células ovoides dispuesta individualmente, se forman en pares y cadenas, son aerobias facultativas, se encuentran en la heces, agua del río, peces enfermos, animales, carne molida y el deterioro de los camarones cocidos (8).

#### **2.2.21.8. Carnobacterium.**

Pertencen a las bacterias del ácido láctico (BAL), consta de ocho especies entre ellas *Karnobacterium alterfunditum*, su aplicación para la conservación biológica de los alimentos, es decir, el uso de cultivos protectores que no modifican las características

sensoriales de los productos, no son exigentes metabólicamente y son menos intolerantes al oxígeno. Capacidad de crecimiento pH 9, crecen a 0°C mientras que a 45°C no crecen (45).

#### **2.2.21.9. Weissella.**

*Weissella* es una bacteria ácido láctica Gram-positiva, no esporulada aislada de una gran variedad de nichos naturales como vegetales, alimentos fermentados, productos cárnicos y rumen bovino, tiene una capacidad microbiana para la producción de compuestos como bacteriocinas (46).

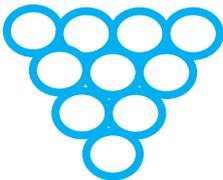
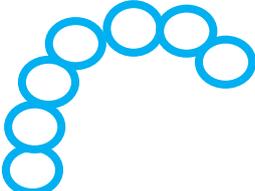
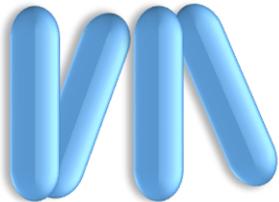
#### **2.2.21.10. Aerococcus.**

Bacterias Gram-positiva son facultativamente aerobias se pueden encontrar en pares o solas, no formadoras de esporas, pueden producir reacción tipo catalasa débilmente positiva, las enzimas citocromas están ausentes (8).

#### **2.2.22. Morfología de las BAL.**

Las bacterias presentan una gran variedad de tamaños y formas que solo se pueden observar a través del microscopio, en la Tabla 5 observaremos algunas de ellas. En la tabla 5 se muestran las formas de las BAL, en dos divisiones de cocos y bacilos.

**Tabla 5.** *Morfología de las bacterias.*

<b>Cocos</b>	
<b>Coco</b>	
<b>Diplococo</b>	
<b>Estafilococo</b>	
<b>Estreptococo</b>	
<b>Tétrada</b>	
<b>Diplococo encapsulado</b>	
<b>Bacilos</b>	
<b>Cocobacilo</b>	
<b>Bacilo</b>	
<b>Empalizada</b>	
<b>Estreptobacilo</b>	
<b>Diplobacilo</b>	

Fuente: Verdezoto D. 2017 (8).

Elaborado por: Gema Muñoz 2019.

## **2.2.23. Tecnología de elaboración de la bebida fermentada.**

### **1. Filtración.**

Es el Proceso de separación de partículas sólidas de un líquido utilizando un material poroso llamado filtro, consiste en verter la mezcla sólido-líquido que se desea tratar sobre el filtro que permita el paso del líquido pero que retenga las partículas sólidas (47).

### **2. Pasteurización.**

Proceso que consiste en el calentamiento de líquidos combinando tiempo y temperatura permitiendo la eliminación de microorganismos patógenos, de esta forma extender el tiempo de vida útil del producto (48). Existen varios métodos de pasteurización entre ellos el método LTLT o baja temperatura por largo tiempo se da a 61°C por 30 minutos, el método HTST el producto se debe mantener a 73°C por 15 minutos y el método de UHT que funciona a 140°C por 2 segundos (49).

### **3. Enfriamiento.**

El enfriamiento es el punto que alcanzan las temperaturas adecuadas dentro de un periodo de tiempo apropiado, ayuda a que un alimento sea seguro para el consumo, para esto se debe mantener fuera de la zona de peligro (41°F-135°F o 5°C- 57°C). Este es el rango donde las bacterias se multiplican rápidamente (50). Existen tres tipos de enfriamiento, enfriamiento rápido son temperaturas de menos -20°F (-29°C), Refrigeración es 32°F a 41°F (0°C a 5°C) y congelamiento la temperatura óptima de conservar alimentos es de 0°F (-18°C) (51).

### **4. Inoculación.**

Es el proceso de introducir artificialmente una porción de muestra (inóculo) en un medio adecuado, con el fin de iniciar un cultivo microbiano, para su multiplicación y desarrollo (16).

## **5. Fermentación.**

Es un proceso catabólico de oxidación incompleta, totalmente anaeróbico, siendo el producto final un compuesto orgánico, caracterizándose por los tipos de fermentaciones pueden ser naturales o artificiales (52).

## **6. Envasado.**

Es la introducción de un producto alimenticio en un envase o recipiente en contacto directo con el mismo, protegiendo, facilitando su transporte y almacenamiento (53).

## **7. Almacenado.**

Proceso que garantiza las condiciones de durabilidad del producto evitando el deterioro o la alteración del mismo, ya sea que se almacene a congelación 0°C o cámaras de refrigeración de 2°C a 4°C, cualquiera de estos casos debe vigilarse la temperatura de almacenamiento (54).

### **2.3. Marco legal.**

Se determinarán los parámetros físico-químicos del mucílago de cacao nacional (pH, acidez, densidad y °Brix), serán analizados bajo las normas técnicas como:

- a) pH norma técnica NTE INEN 0389
- b) Acidez norma técnica NTE INEN 1092:2013
- c) Densidad norma técnica NTE INEN 0856
- d) °Brix norma técnica NTE INEN 0273:2012

Los parámetros físico-químicos del lactosuero que se analizarán serán (pH, acidez), bajo las normas técnicas establecidas:

- a) pH norma técnica y requisitos NTE INEN 2594:2011.
- b) Acidez norma técnica NTE INEN 2594:2011.

Los parámetros físico-químicos que se analizarán al extracto de soya serán (pH, acidez, °Brix) cumpliendo con la norma establecida:

- a) pH norma técnica Método 981.12 AOAC.
- b) Acidez norma técnica Método 950.15 AOAC.
- c) °Brix norma técnica Método 983.17 AOAC.

**CAPÍTULO III**  
**METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN**

### 3.1. Localización.

La presente investigación se realizó en la planta de lácteos de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo la misma que está ubicada en el km 7.5 vía Quevedo – El Empalme, entrada el Cantón Mocache, Provincia de Los Ríos, Ecuador, los análisis físico-químicos se realizaron en el Laboratorio de Bromatología de la misma y en la Universidad Tecnológica Equinoccial sede Santo Domingo, los análisis microbiológicos se realizaron en el laboratorio AGROLAB Santo Domingo.

#### 3.1.1. Condiciones meteorológicas.

Las condiciones meteorológicas donde se desarrollará la presente investigación se detallan en la Tabla 6.

**Tabla 6.** *Condiciones meteorológicas de la Finca Experimental “La María”.*

Datos meteorológicos	Valores promedio
Humedad Relativa (%)	85,84
Temperatura	22,47
Precipitación (mm/año)	2223,85
Heliofania (horas luz/año)	898,66
Zona ecológica	Bosque semi húmedo tropical

**Fuente:** INAMHI Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología 2013 (55).

**Elaborado por:** Gema Muñoz 2019.

### 3.2. Tipo de investigación.

Se hizo una investigación exploratoria, descriptiva y experimental, puesto que no se ha encontrado datos sobre la elaboración de bebida a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional.

#### **Investigación exploratoria.**

La investigación exploratoria aborda campos poco conocidos, que necesitan ser aclarados y delimitados, suelen incluirse amplias revisiones literarias y consultas. Incluye generalmente

la delimitación de uno o varios problemas científicos en el área que se investiga y que requieren un estudio posterior (56).

### **Investigación descriptiva.**

La investigación descriptiva se ubica sobre una base de conocimientos más sólida que la investigación exploratoria, la misma va de la mano con la explicativa. Esta investigación se utiliza cuando el problema alcanza un cierto nivel de claridad pero aun así necesita información para esclarecer relaciones causales (56).

### **Investigación experimental.**

Esta investigación es experimental porque se realizó varios tratamientos, para poder determinar la concentración de mucílago de cacao nacional adecuada que debe ser inoculada en la bebida fermentada a base de lactosuero y soya.

## **3.3. Métodos de investigación.**

En esta investigación se utilizó los siguientes métodos:

### **Método inductivo-deductivo:**

Se empleó este método de investigación, ayudando a dar solución al problema planteado, el mismo que permitió obtener una tecnología adecuada para la elaboración de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional en diferentes niveles.

### **Métodos estadísticos:**

Los datos se procesaron con la ayuda de programas en la computadora como: Microsoft Excel e Infostat, se calcularon, ordenaron, cuantificaron y tabularon los diferentes análisis, los mismos que permitieron obtener los resultados.

### **3.4. Fuentes de recopilación de información.**

En la presente investigación se desarrolló una bebida a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional (*Theobroma cacao L.*), se utilizó las siguientes fuentes:

#### **Fuentes primarias.**

- Pre-ensayo
- Trabajo de campo

#### **Fuentes secundarias.**

- Libros
- Artículos científicos
- Revistas
- Tesis
- Páginas Web

### **3.5. Diseño de investigación.**

El diseño experimental es una técnica estadística que permitió identificar y cuantificar las causas de un resultado dentro de un estudio experimental.

Se empleó un diseño completamente al azar (DCA), con 4 tratamientos, y 4 repeticiones se elaboraron 4 bebidas fermentadas a base de (75%) lactosuero y (25%) soya inoculada con mucílago de cacao nacional en diferentes niveles (5%; 10%; 15%), tomando en cuenta al Testigo (T0) con un 0% de mucílago de cacao.

Para la comparación de medias de los tratamientos se utilizó la prueba de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). El análisis estadístico se realizó con un software (Infostat).

### 3.5.1. Esquema del ANDEVA.

En la Tabla 7, se muestra el esquema de análisis de varianza.

**Tabla 7.** *Esquema del ANDEVA.*

<b>Fuente de variación (FV)</b>			<b>Grados de libertad (GL)</b>
Tratamiento	(t-1)	(4-1)	3
Error experimental	t (r-1)	4(4-1)	12
Total	(t*r) -1	4*4 -1	15

**Elaborado por:** Gema Muñoz 2019.

### 3.5.2. Modelo matemático.

Las fuentes de variación para la presente investigación se efectuó con el siguiente modelo matemático, cuyo esquema corresponde a:

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

**Dónde:**

$Y_{ij}$  = Total, de las observaciones en estudios.

$\mu$  = Efecto de la media general.

$T_i$  = Efecto de los tratamientos en estudio.

$\epsilon_{ij}$  = Efecto aleatorio o error experimental.

### 3.5.3. Esquema del experimento.

En la Tabla 8 se plantea el esquema del experimento con los tratamientos, repeticiones y unidades experimentales de una manera detallada, en donde se analizó al lactosuero y la soya posteriormente se elaborará cuatro bebidas a base de estas materias primas con una formulación única con diferentes niveles (5%; 10%; 15%) de mucílago de cacao nacional, cada una de ellas está conformada por (75%) 1500 mL de lactosuero y (25%) 500mL de

soya, siendo la unidad experimental de 2000mL por cuatro repeticiones dando un subtotal de 8000mL de bebida fermentada .

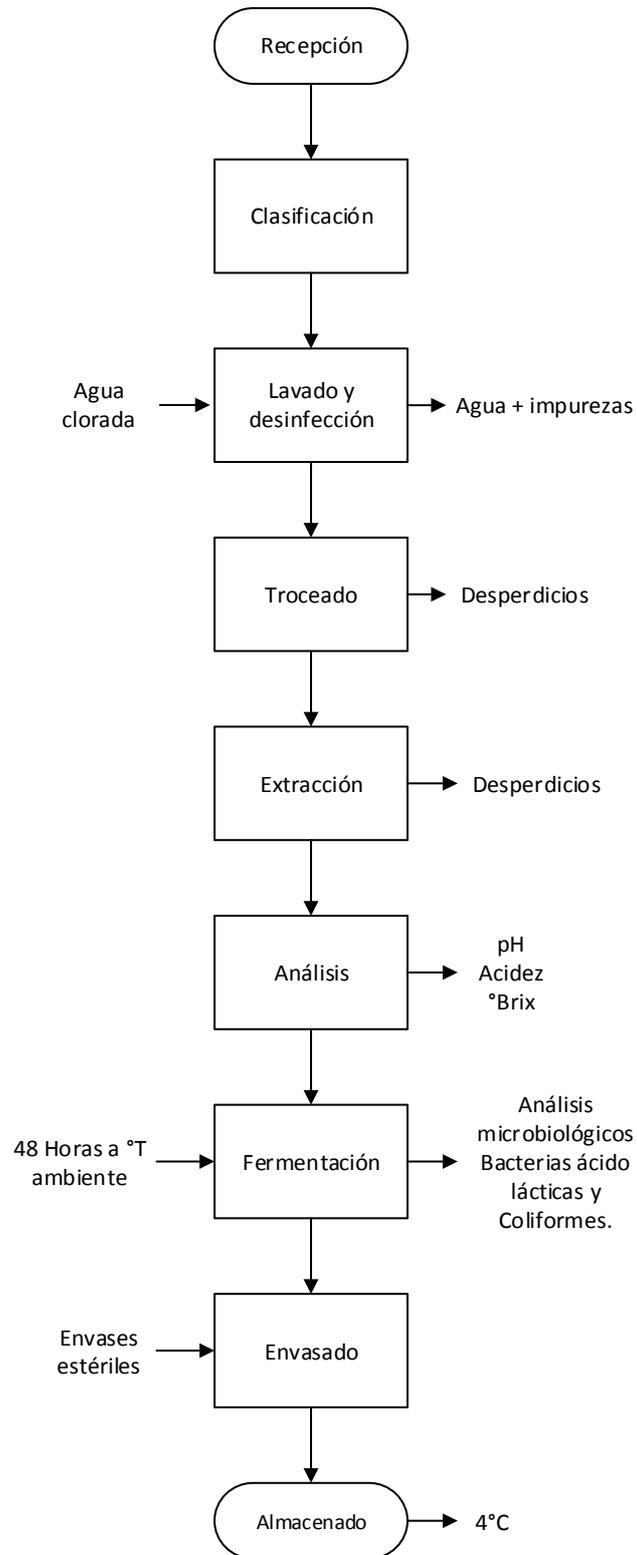
**Tabla 8.** *Esquema experimental.*

<b>Tratamientos</b>	<b>Repeticiones</b>	<b>Unidad experimental (mL)</b>	<b>Subtotal (mL)</b>
T0 (bebida fermentada a base de lactosuero y soya).	4	2000	8000
T1 (bebida fermentada inoculada con mucílago de cacao nacional al 5%).	4	2000	8000
T2 (bebida fermentada inoculada con mucílago de cacao nacional al 10%).	4	2000	8000
T3 (bebida fermentada inoculada con mucílago de cacao nacional al 15%).	4	2000	8000
		<b>Total</b>	<b>32000</b>

**Elaborado por:** Gema Muñoz 2019.

### 3.6. Procedimiento experimental.

#### 3.6.1. Flujograma del proceso de recolección del mucílago de cacao nacional.

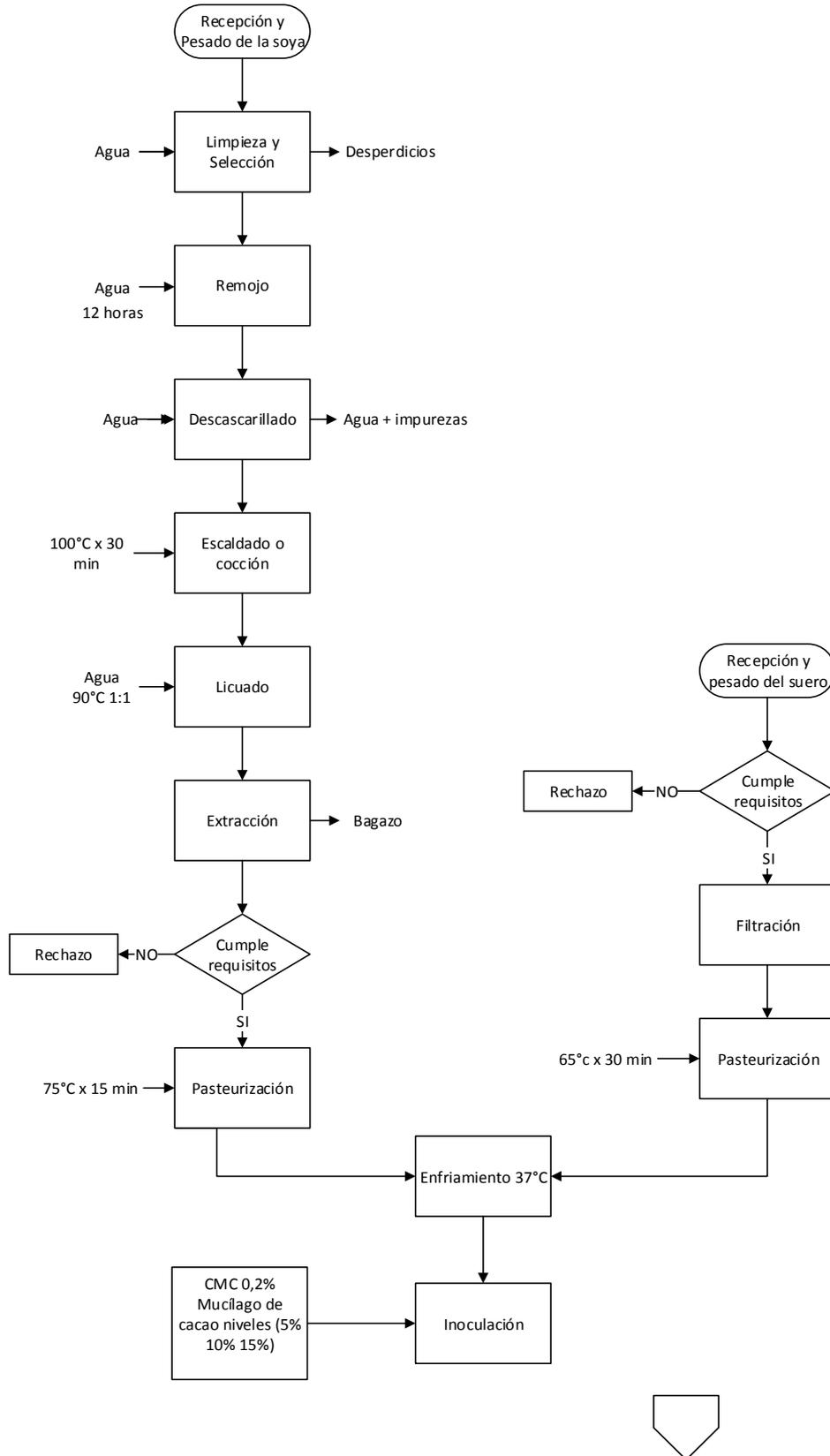


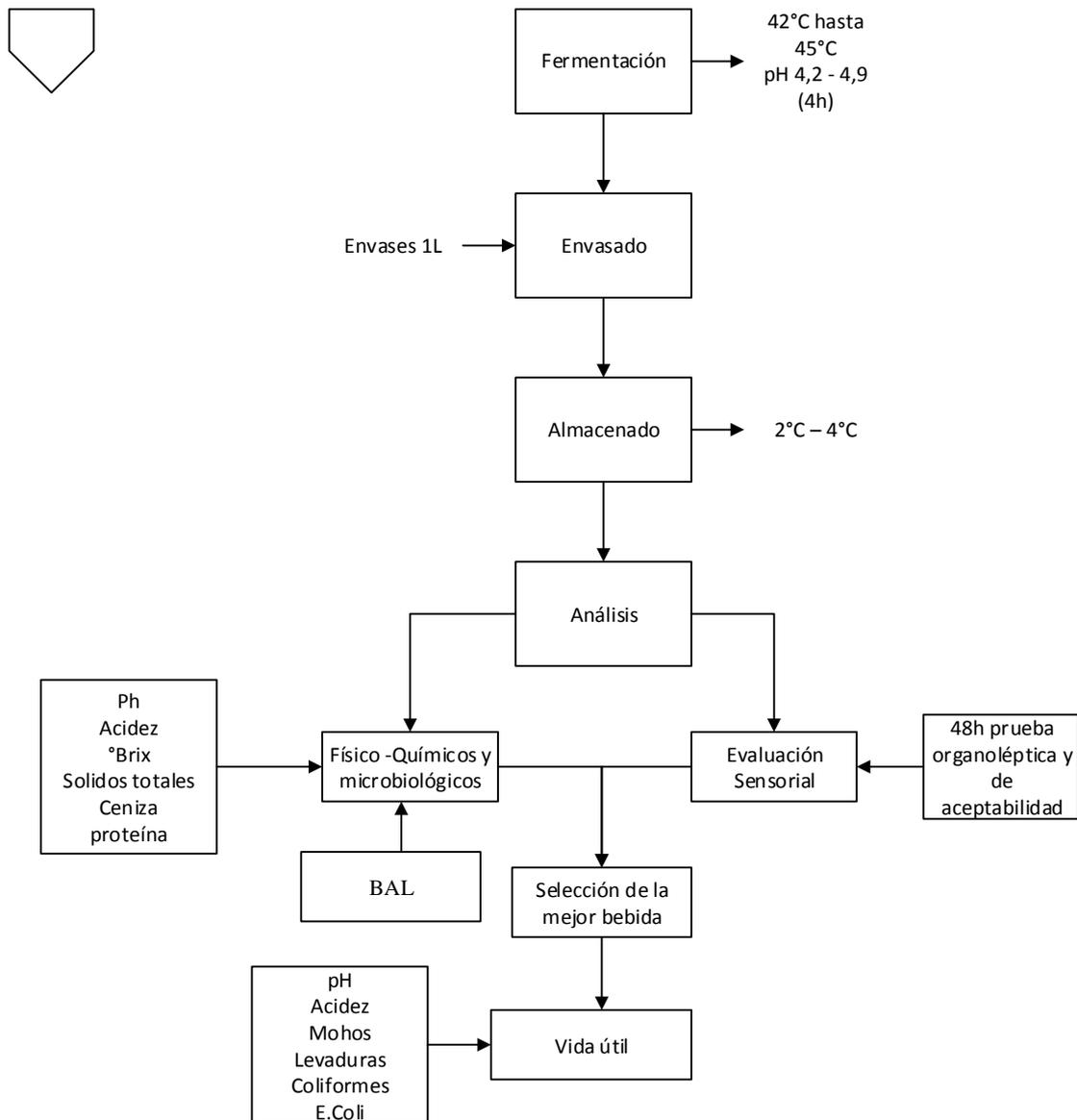
Elaborado por: Gema Muñoz 2019.

### 3.6.2. Descripción de la recolección del mucílago de cacao.

1. **Recepción del cacao:** las mazorcas de cacao nacional se obtuvieron en el cantón “La Concordia” recinto Monterrey Santo Domingo de los Tsáchilas.
2. **Clasificación:** se realizó una clasificación de las mazorcas de cacao según su apariencia física y estado de madurez, observando que se encuentren libres de enfermedades.
3. **Lavado y desinfección:** las mazorcas fueron sometidas a un proceso de enjuague con agua clorada en una proporción de 100ppm.
4. **Troceado:** el corte de las mazorcas se realizó con un cuchillo de acero inoxidable, en forma transversal y longitudinal de manera que facilite la extracción de las almendras mucilaginosas.
5. **Extracción:** para la recolección del mucílago de cacao se utilizó un lienzo de color blanco de 100 cm, en el cuál se colocaron las almendras de cacao y se ejerció presión, con el propósito de extraer el líquido mucilaginoso.
6. **Análisis:** una vez filtrado se procedió a realizar los análisis de la materia para establecer los parámetros iniciales de pH, acidez, y °Brix de acuerdo a la NTE INEN 176:2006.
7. **Fermentación:** la fermentación se realizó por 48 horas a temperatura ambiente para que se produzcan las (BAL).
8. **Envasado:** se recolectó en envases estériles de plástico para su respectivo reposo.
9. **Almacenado:** se almacenó en refrigeración a 4°C para su respectiva utilización de acuerdo a la formulación, previamente se realizaron los análisis microbiológicos para bacterias ácido lácticas y coliformes totales NTE INEN 2395-2011

### 3.6.3. Flujograma de elaboración de la bebida fermentada inoculada con mucílago de cacao nacional.





Elaborado por: Gema Muñoz 2019.

### 3.6.4. Descripción de la obtención del extracto de soya.

- 1. Recepción y pesado:** se receptaron los granos de soya obtenidos del mercado de granos en la Ciudad de Santo Domingo y se pesó la cantidad de soya a utilizar de acuerdo a la formulación.
- 2. Limpieza y selección:** se seleccionó los granos con el objetivo de remover los materiales extraños, como piedras, pajas, hierbas, entre otros. Posteriormente se enjuagó con agua potable para remover todas las impurezas del grano.

3. **Remojo:** una vez lavado los granos se sometieron en remojo en agua fría por un lapso de 12 horas con el fin de facilitar el descascarillado.
4. **Descascarillado:** en este punto se reemplaza el agua con una más fresca, y se procede a pelar cada uno de los granos de soya.
5. **Escaldado o cocción:** el escaldado se realizó a una temperatura de 100°C por un lapso de 30 minutos esto tiene como objetivo desactivar la enzima lipoxigenasa.
6. **Licudo:** El grano se licuó con agua caliente a 90°C, en una proporción de peso/volumen (1 kilo de soya/ 1 litro de agua).
7. **Extracción:** luego de licuar los granos se extrajo el líquido utilizando un lienzo, con el fin de eliminar el bagazo para evitar problemas durante la elaboración de la bebida fermentada.
8. **Análisis:** se tomaron los primeros parámetros de la soya como pH método 981.12 AOAC, acidez método 950.15 AOAC., °Brix método 983.17 AOAC., para saber si se encuentra dentro de los rangos establecidos en la NTE INEN 3028:2018-02; NTE INEN 452:2013
9. **Pasteurización:** este tratamiento térmico se lo realizó a una temperatura de 75°C por un lapso de 15 minutos. Los objetivos de este proceso es la destrucción de los microorganismos patógenos y mejorar la digestibilidad de la proteína al inactivar los inhibidores de tripsina.
10. **Enfriamiento:** Se realizó un enfriamiento rápido hasta 37°C para continuar con la elaboración de la bebida fermentada.

### 3.6.5. Descripción de la obtención del lactosuero.

1. **Recepción:** se recibió el lactosuero obtenido del Cantón “Carmen” y se pesó la cantidad a utilizar de acuerdo a la formulación.

2. **Análisis:** se tomaron los primeros parámetros del lactosuero como pH con la NTE INEN 2594:2011 y acidez con la NTE INEN 13 para saber si se encuentra dentro de los rangos establecidos.
3. **Filtración:** se filtró empleando un lienzo de tela esterilizado para la eliminación de cualquier agente extraño.
4. **Pasteurización:** la pasteurización se realizó a 65°C por un lapso de 30 minutos para evitar la desnaturalización de la proteína.
5. **Enfriamiento:** se realizó un enfriamiento rápido hasta 37°C para continuar con la elaboración de la bebida fermentada.

### **3.6.6. Descripción de elaboración de la bebida fermentada.**

1. **Inoculación:** previamente enfriado el lactosuero y la soya se procedió a inocular junto con el mucílago de cacao nacional rico en bacterias ácidos lácticas (BAL) al igual que el resto de ingredientes.
2. **Fermentación:** se realizó inmediatamente la fermentación a 42°C - 45°C por un lapso de 4 horas hasta obtener un pH 4,2 a 4,9.
3. **Envasado:** se colocaron las bebidas en envases de vidrio de 1 litro.
4. **Almacenamiento:** las bebidas se almacenaron en refrigeración a una temperatura de 2 a 4°C de acuerdo a la NTE INEN 2609.
5. **Análisis:** se realizaron los análisis físico-químicos y microbiológicos (BAL) a las bebidas, pasada las 48 horas se evaluó sensorialmente y se escogió al mejor tratamiento para su respectivo control físico-químico y microbiológico de agentes patógenos para la estimación de su vida útil.

### 3.6.7. Formulación de la bebida fermentada inoculada con mucílago de cacao.

La elaboración de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao, se conforma de 4 formulaciones descritas en la Tabla 9.

**Tabla 9.** *Formulación para ocho litros de bebida fermentada inoculada con mucílago de cacao nacional a los diferentes tratamientos.*

Materia prima e insumos	Formulación 1		Formulación 2		Formulación 3		Formulación 4	
	%	Cant.	%	Cant.	%	Cant.	%	Cant.
Lactosuero (mL)	75	6000	75	6000	75	6000	75	6000
Soya (mL)	25	2000	25	2000	25	2000	25	2000
Mucílago de cacao N. (mL)	0	0	5	400	10	800	15	1200
CMC (mg)	0,2	16	0,2	16	0,2	16	0,2	16

Elaborado por: Gema Muñoz 2019.

### 3.7. Instrumentos de investigación.

Los instrumentos aplicados en la investigación fueron los siguientes:

#### 3.7.1. Viabilidad microbiológica de las (BAL).

Se determinó la viabilidad de las bacterias ácido lácticas realizando los análisis respectivos una vez extraído el mucílago de cacao nacional fermentado durante 48 horas para evitar el crecimiento microbiano de bacterias patógenas y a la bebida elaborada en un lapso de cada 5 días durante 20 días, de esta manera se obtuvo el crecimiento (BAL) de acuerdo a la NTE INEN 2395:2011.

### 3.7.2. Variables físico-químicas.

#### 3.7.2.1. Variable Independiente.

- Se determinaron los parámetros físico-químicos del mucílago de cacao nacional (pH, acidez y °Brix), analizados bajo las NTE INEN 176:2006 ver Anexo 1.
- Los parámetros físico-químicos del lactosuero que se analizaron fueron (pH, acidez), bajo las normas técnicas establecidas NTE INEN 2609:2012 ver Anexo 2.
- Los parámetros físico-químicos que se analizaron al extracto de soya fueron (pH, acidez, °Brix) cumpliendo con la norma establecida NTE INEN 3028:2018-02 ver Anexo 3.

#### 3.7.2.2. Variable Dependiente.

Los parámetros físico-químicos que se evaluaron a la bebidas fermentadas fueron: pH, acidez, °Brix, sólidos totales, ceniza y proteína, siguiendo las respectivas técnicas establecidas en la norma; NTE INEN 2608:2012 (ver Anexo 4).

**Tabla 11.** *Parámetros físico-químicos y sus normativas para la bebida fermentada.*

Parámetros	Normativas	Detalle
pH	NTE INEN 0973	
Acidez	NTE INEN 13	
°Brix	Refractómetro	ATC(0-32 °Brix)
Humedad	NTE INEN 63	
Sólidos totales	NTE INEN 14	
Ceniza	NTE INEN 14	
Proteína	NTE INEN 16	

Elaborado por: Gema Muñoz 2019.

- **pH.**

Para determinar el pH en la bebida fermentada, se empleó el método electro analítico conocido también como potenciómetro, el mismo que determina la concentración de la sustancia por la medida del potencial de un electrodo indicador (ver Anexo 5).

- **Acidez.**

Para determinar el porcentaje de acidez, se empleó el método AOAC 18TH 942 15, el mismo se basa en la acidez titulable, valorando la muestra con solución de hidróxido de sodio 0.1N ante la fenolftaleína como indicador, hasta obtener un color rosa morado, el resultado será expresado en función al ácido predominante de la muestra, los equipos y fórmula a utilizados se presentan en el (Anexo 5).

- **°Brix.**

Los grados Brix fueron tomados con un refractómetro una vez colocada la muestra el mismo indicará la cantidad de sacarosa (azúcar) disuelta en el líquido en este caso de la bebida fermentada.

- **Humedad.**

Para determinar la humedad presente en la bebida fermentada se empleó el método gravimétrico, que se basa en la pérdida de peso de una muestra desecada por calentamiento, con el fin de determinar si a la bebida o al lactosuero se le ha adicionado agua y para determinar sólidos totales se toma en cuenta la diferencia de pesos, el procedimientos y equipos utilizados se presentan en el (Anexo 6).

- **Ceniza.**

Para determinar la fracción correspondiente de minerales del alimentos dado el caso en la bebida, se tomó cierta cantidad de muestra, se combustionó en una mufla u horno a 600°C

incinerándola quedando así los compuestos inorgánicos, los equipos y procedimiento utilizados se presentan en el (Anexo 7).

- **Proteína.**

La determinación de proteína se realizó con el método de Kjeldhal, que se caracteriza por el uso de ebullición, ácido sulfúrico concentrado que efectúa la destrucción oxidativa de la materia orgánica de la muestra y la reducción del nitrógeno, y podrá ser determinado por destilación o titulación, para más detalles de su procedimiento, materiales y equipos (ver Anexo 8).

### **3.7.3 Variables organolépticas a evaluar.**

Una vez realizado todo el proceso de elaboración después 48 horas previamente refrigerada, se proporcionó a cada panelista 30 mL de las cuatro muestras codificadas aleatoriamente, se procedió a entregar su respectiva hoja para determinar las cualidades organolépticas del mejor tratamiento, la misma que se logró con la ayuda de 30 panelistas no entrenados, entre los cuales encontraremos ingenieros/as que trabajan en la UTEQ – FCP y estudiantes de la carrera de Ingeniería en Alimentos, mediante una prueba de preferencia se evaluó la valoración de los diferentes porcentajes de mucílago de cacao nacional para cada atributo organoléptico (olor, sabor, color, gusto, apariencia general bajo la metodología y la guía general para establecer un perfil sensorial ISO 13299:2003- INEN-ISO 13299) utilizando una escala de cuatro puntos, en la que el número uno significa “ligero” hasta el número cuatro que significa “Mucho” (ver Anexo 9).

Escala de intervalo de cuatro puntos:

1. Nada
2. Ligero
3. Moderado
4. Mucho

En la tabla 12 se describen los atributos sensoriales a evaluar en los diferentes tratamientos.

**Tabla 12.** *Atributos sensoriales.*

<b>Olor</b>	<b>Sabor</b>	<b>Color</b>	<b>Gusto</b>	<b>Textura</b>
Suero	Suero	Beige	Ácido	Fluidez
Soya	Soya	Blanco lechoso	Dulce	
Mucílago	Mucílago			
Yogurt	Yogurt			

**Elaborado por:** Gema Muñoz 2019.

### **3.7.4. Determinación del mejor tratamiento.**

Se analizaron los parámetros físico-químicos y atributos sensoriales de los distintos tratamientos de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao en diferentes niveles, se pudo establecer en general mediante los parámetros físico-químicos y a criterio de los panelistas evaluados cuál de los tratamientos presenta las mejores características.

### **3.7.5. Estimación de la vida útil de la bebida fermentada.**

Una vez determinado el mejor tratamiento de las diferentes muestras de bebidas fermentadas inoculadas con mucílago de cacao nacional, se controlaron los parámetros físico-químicos descritos anteriormente como: pH, acidez expresada en porcentaje de ácido láctico, para verificar su inocuidad y el incremento microbiano se efectuó recuentos de *mohos-levaduras* de acuerdo con los requerimientos de la NTE INEN 2608:2012 (ver Anexo 4), tomando en referencia la ecuación de las vidas medias Alvarado J. (1996) (7), el cuál describe una cinética de primer orden, mediante esto se podrá estimar el tiempo de durabilidad de la bebida fermentada elaborada sin conservantes.

$$Y = a + bx = \ln A = \ln A_0 + kt$$

**Donde:**

**Ln A** = Es valor final de pH, acidez, recuento de microorganismos.

**Ln A0** = Es valor de a de la ecuación.

**k** = Es valor de b de la ecuación

**t** = Es el tiempo de vida útil.

### **3.7.6. Análisis económico.**

Se calculó el costo de producción al mejor tratamiento, en el cual se utilizó el programa de Excel con un flujo de caja sencillo incluyendo: materia prima, mano de obra, suministros e insumos, gastos administrativos y gastos de venta que intervendrán en el proceso de elaboración de la bebida fermentada.

A continuación se detalla las formulaciones que se utilizarán para calcular los costos de producción de la misma.

**Fórmulas:**

$$**COSTO PRIMARIO = MPD + MOD**$$

**Donde:**

*MPD* = *Materia prima directa*

*MOD* = *Mano de obra directa*

$$**COSTO CONVERSION = MOD + CIF**$$

**Donde:**

*MOD* = *Mano de obra directa*

*CIF* = *Costos indirectos de fabricación*

$$\mathbf{COSTO\ PRODUCCION = MOD + MPD + CIF}$$

**Donde:**

*MOD= Mano de obra directa*

*MPD= Materia prima directa*

*CIF= Costos indirectos de fabricación*

$$\mathbf{COSTO\ DISTRIBUCIÓN = GA + GV}$$

**Donde:**

*GA= Gastos administrativos*

*GV= Gastos de venta*

$$\mathbf{COSTO\ TOTAL = C.P + C.D}$$

**Donde:**

*CP= Costos de producción*

*CD= Costos de distribución*

### **3.8. Tratamiento de los datos.**

En la tabla 13, se detalla la descripción de los 4 tratamientos en estudio para la obtención de una bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional en diferentes niveles (5%; 10%; 15%).

**Tabla 13.** Descripción de los tratamientos en estudio.

<b>Tratamiento</b>	<b>Descripción</b>	<b>Código</b>
0	Bebida fermentada lactosuero 75% + soya 25%	BFLS
1	Bebida fermentada lactosuero 75% + soya 25% mucílago de cacao nacional 5%	BFLSM5%
2	Bebida fermentada lactosuero 75% + soya 25% mucílago de cacao nacional 10%	BFLSM10%
3	Bebida fermentada lactosuero 75% + soya 25% mucílago de cacao nacional 15%	BFLSM15%

Elaborado por: Gema Muñoz 2019.

### **3.9. Recursos humanos y materiales.**

Para realizar esta investigación se contó con los siguientes recursos humanos.

- Ing. Nelson Ramiro Villegas Soto, PhD. Tutor del proyecto de investigación.
- Ing. Christian Vallejo Torres MSc. Coordinador de la carrera de Ingeniería en Alimentos.
- Ing. Jaime Vera Chang MSc. parte estadística.

#### **3.9.1. Materia prima.**

- Lactosuero
- Granos de soya
- Cacao nacional

#### **3.9.2. Insumos.**

- Mucílago de cacao
- Extracto de soya
- CMC
- Agua

### **3.9.3. Materiales.**

- Lienzos
- Envases estériles
- Cuchillo
- Tachos
- Ollas de acero inoxidable
- Botellas de vidrio de 1L
- Termómetro
- pH metro
- Refractómetro
- Jarras plásticas de 6 litros
- Embudo plástico
- Cinta
- Marcador
- Papel
- Encendedor
- Pendrive
- Cuaderno
- Carpeta

### **3.9.4. Materiales de laboratorio y medios de cultivo.**

- Pipetas Volumétricas
- Algodón Liofilizado
- Matraces volumétricos
- Cápsulas de porcelana
- Vasos de precipitación
- Varilla de vidrio
- Probeta graduada
- Buretas graduadas
- Soporte universal

- Tubos de ensayo
- Gradilla
- Espátula
- Pinza universal
- Matraz Erlenmeyer
- Gotero
- Tubos de destilación

### **3.9.5. Equipos.**

- Computadora
- Impresoras
- Licuadora
- Balanza gramera
- Cocina industrial
- Balanza analítica
- Incubadora
- Refrigeradora
- Equipo Kjeldhal
- Mufla
- Estufa
- Unidad digestora

### **3.9.6. Reactivos.**

- Agua destilada
- Alcohol
- Fenolftaleína
- Hidróxido de sodio 0.1N
- Agua clorada 100ppm
- Indicador Kjeldhal

**CAPÍTULO IV**  
**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **4.1. Parámetros iniciales de las materias primas para la elaboración de la bebida fermentada.**

En la tabla 14, se detallan los parámetros iniciales previo a la elaboración de la bebida fermentada: pH, acidez y grados brix. Se realizaron los análisis físico-químicos al mucílago una vez fermentado a 48 horas lo cual presentó un pH de 3,58, acidez de 0,68% y grados brix de 17, los mismos que se encuentran dentro de los parámetros establecidos en la NTE INEN 176:2006, la soya con un pH de 6,62, acidez de 0,08% y grados brix de 6 cumpliendo así con los requisitos de la NTE INEN 3028:2018-02, por otro lado el suero con un pH de 6,5, considerándolo como un suero dulce, acidez de 0,19% y grados brix de 6 se encuentran dentro del rango establecido en la NTE INEN 2609:2012.

**Tabla 14.** *Parámetros iniciales de las materias primas FCP-UTEQ.2019.*

<b>PARÁMETROS INICIALES</b>			
	<b>pH</b>	<b>Acidez %</b>	<b>°Brix</b>
Mucílago	3,58	0,68	17°
Soya	6,62	0,08	6°
Suero	6,5	0,19	6°

Elaborado por: Gema Muñoz 2019.

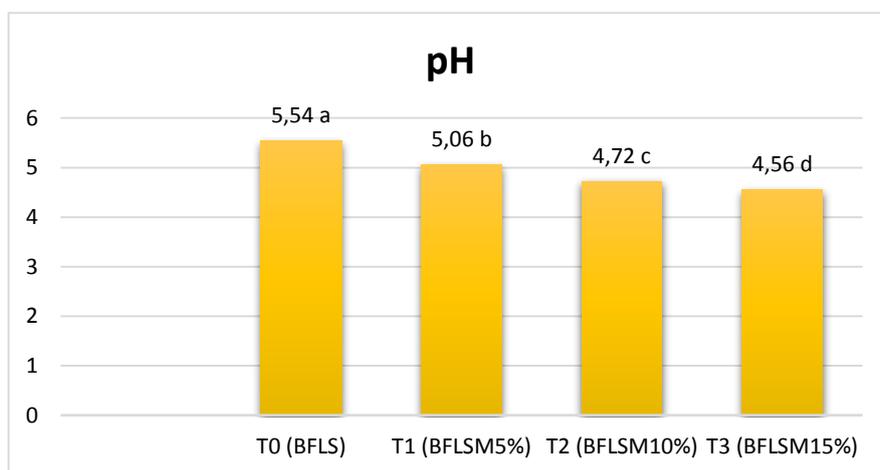
#### **4.2. Análisis físico- químicos de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional.**

Los análisis físico-químicos realizados a cada uno de los tratamientos: pH, acidez, grados brix y proteína manifiestan diferencias significativas entre tratamientos ( $p \leq 0,05$ ), mientras que los sólidos totales, humedad y ceniza no existió diferencia significativa entre tratamientos ( $p \geq 0,05$ ), los promedios se pueden observar en la (Tabla 15), para más detalle (Ver Anexo 11).

### 4.2.1. pH en la bebida fermentada inoculada con mucílago de cacao.

En el análisis de varianza para la variable pH, presentaron diferencias significativas Tukey ( $p \leq 0,05$ ) entre tratamientos, el T3 con el 15% de mucílago presentó el menor valor de pH (4,56) que fue estadísticamente difiriendo de los demás tratamientos, mientras el T0 sin adición de mucílago presentó los valores más altos de pH (5,54) (ver figura 1). Los valores de pH descritos en esta investigación son similares a los descritos por Guerrero (2011) (7), en su estudio de utilización de probióticos en la elaboración de una bebida de soya, donde el pH de menor valor fue de 4,3 con un máximo de 7 y la relación existente entre el descenso del mismo con relación al tiempo de fermentación, presentando diferencias estadística significativas en sus factores por la concentración de inóculo.

Comparando los resultados obtenidos por Samaniego (2011) (10), en la elaboración de una bebida fermentada a base de lactosuero y soya, presenta valores superiores de pH en un rango de 6,2- 6,6, esta diferencia se debe a los niveles de mucílago de cacao inoculada en la bebida fermentada. En base a esto se logra deducir que el T3, se encuentra dentro de los rangos establecidos de las bebidas fermentadas.

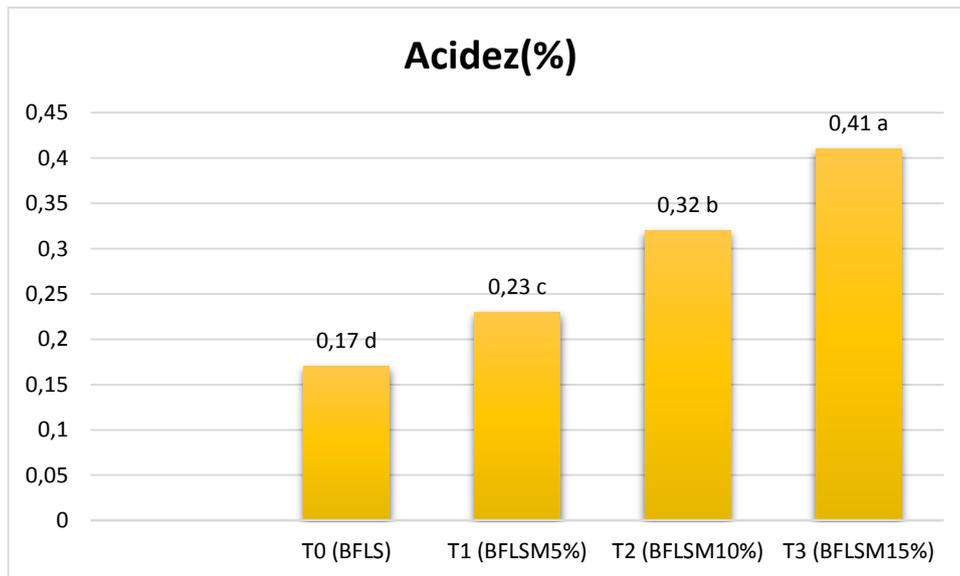


**Gráfico 1.** Análisis de pH en los tratamientos de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional.

### 4.2.2. Acidez.

La acidez expresada como ácido láctico en la bebida fermentada con diferentes porcentajes de mucílago de cacao nacional, demuestra que existe diferencia significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre tratamientos, los mismos reflejados en el (Gráfico 2), el T3 con mayor porcentaje de mucílago presentó mayor valor de ácido láctico (0,41%), por otro lado el de menor valor (0,17%) lo adquirió el T0 identificado como testigo debido a que no contiene porcentajes de mucílago. La acidez de acuerdo con Guerrero (2011) (7), tiene un incremento en el transcurso del tiempo de fermentación, es decir directamente proporcional por el porcentaje de inóculo siendo altamente significativo sobre las respuestas experimentales.

Concluyendo con Peláez (2016) (57), en su investigación evaluación de acidez titulable en la elaboración de yogurt en base a la NTE INEN 2395, el porcentaje de ácido láctico se encuentra en (0,40%) como dato menor, sin embargo refleja porcentajes aún mayores y esto se debe a la cantidad de bacterias ácido lácticas y azúcar añadidas en el yogurt, considerando que el tiempo de fermentación es el mismo, siendo así que el T3 de la presente investigación se encuentra un poco más del rango menor a diferencia que no contiene azúcar pero si el 15% de mucílago de cacao con presencia de bacterias ácido lácticas.



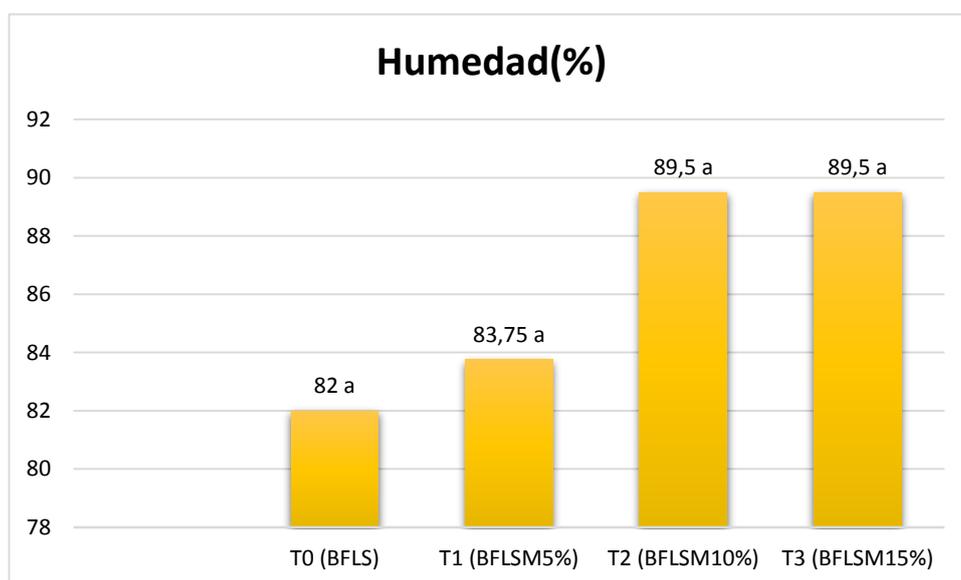
**Gráfico 2.** Análisis de acidez en los tratamientos de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional.

### 4.2.3. Humedad o pérdida por calentamiento.

La humedad reflejada en el (Gráfico 3), obtenida del ANDEVA (Tabla 15), indica que entre tratamientos no existe diferencia estadísticamente significativa ( $p \geq 0,05$ ), sin embargo el mayor porcentaje de humedad es del T3 (89,5%) esto se debe a la adición de agua al momento de preparar el extracto de soya y la adición del mucílago en un 15%, a diferencia del T0 (82%) con menos humedad, ya que no se adiciona mucílago de cacao pero si extracto de soya.

En comparando con la investigación de Samaniego (2011) (10), nos indica que en su bebida fermentada de lactosuero y soya obtuvo un 80% de humedad, deduciendo así que los rangos concuerdan con el T0 por motivo que tampoco contiene mucílago de cacao nacional.

De acuerdo con Hernández *et al.* (2019) (58), en su investigación desarrollo de una bebida elaborada con harina de arroz y ajonjolí (*Sesamum Indicum*) y fermentada con cultivos probióticos, presentó como porcentajes más bajo 80% hasta el más alto con 85%, esto varía por la cantidad de arroz y ajonjolí que se le adicionó al igual que los probióticos.

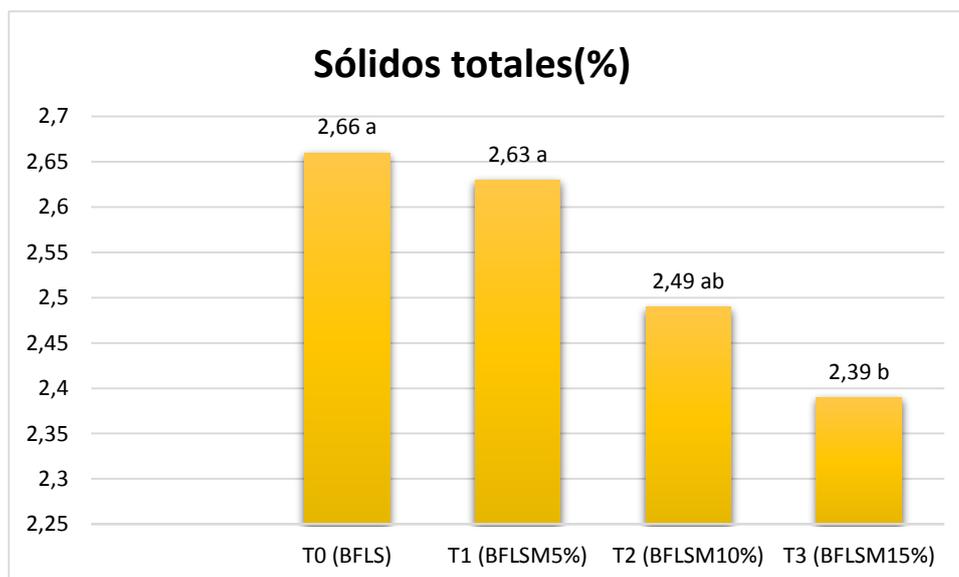


**Gráfico 3.** Análisis de humedad en los tratamientos de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional.

#### 4.2.4. Sólidos totales.

Los sólidos totales expuestos en el (Gráfico 4), demuestra que existió diferencia significativa ( $p \geq 0,05$ ) sin embargo, tomando en cuenta a la humedad (Ver Gráfico 3) en cuanto a humedad, el valor mayor se encuentra en el T0 (2,66%), seguido del T1 (2,63%) ya que contienen menor humedad y más sólidos en comparación al T2 (2,49%) y T3 (2,39) siendo el de menor valor debido a las adiciones de mucílago en cada uno de ellos.

Coincidiendo también con lo expuesto Samaniego (2019) (10), en su bebida sin adición de mucílago pero con adición de otros componentes sólidos con un valor de 20% de sólidos totales. Los resultados obtenidos son superiores a los descritos por Villacís (2019) (59), de acuerdo a su investigación bebida de suero fermentado con la adición de jugo de sábila (*Aloe vera L.*) y pulpa de mora (*Rubus glaucus Benth*) con características probióticos sus formulaciones son estandarizadas de 1 a 9% de sólidos totales lácteos con suero en polvo.



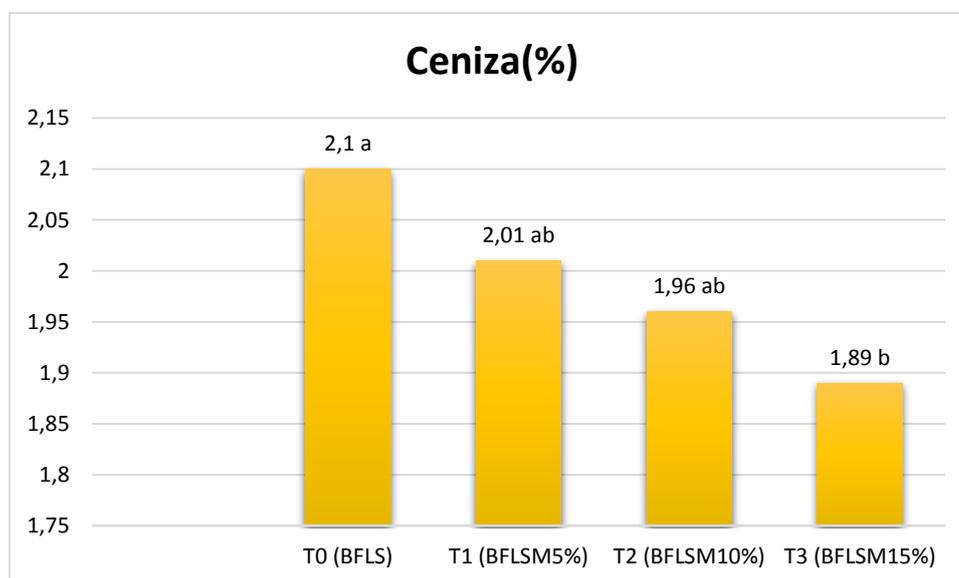
**Gráfico 4.** Análisis de Sólidos totales en los tratamientos de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional.

#### 4.2.5. Ceniza.

En cuanto al porcentaje de ceniza igualmente reflejada en el (Gráfico 5), nos indica que no existe diferencia significativa ( $p \geq 0,05$ ), debido a lo expuesto anteriormente (Gráfico 3) y (Gráfico 4). Siendo los sólidos totales la continuación para el desarrollo del mismo, dado que el T0 continúa con mayor porcentaje (2,10%) y T3 con el menor el (1,89%) con adición de mucílago en mayor porcentaje.

Discrepando con Samaniego (2011) (10), determina que el porcentaje de ceniza tanto en el lactosuero, soya y en su bebida final se observa un aumento considerable por los minerales de las materias primas e insumos utilizados, diferenciando así la bebida fermentada inoculada con mucílago, con menor porcentaje de ceniza por su mayor contenido de mucílago en comparación de los demás tratamientos en estudio.

En comparación a la caracterización bromatológica de las bebidas autóctonas investigadas por Pastrana *et al.* (2015) (60), presentó valores menores de (1,39%) y como el mayor valor (4,29%).

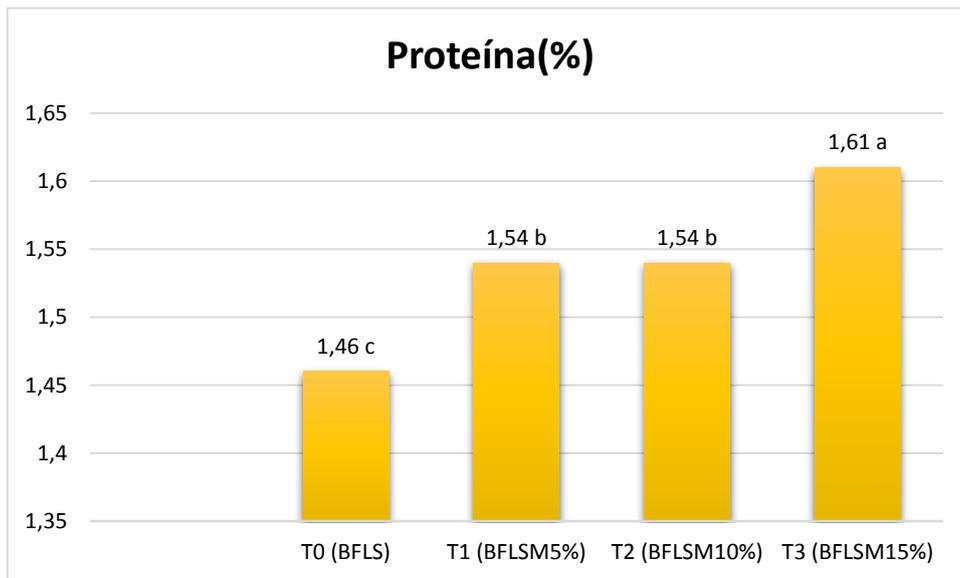


**Gráfico 5.** Análisis de ceniza en los tratamientos de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional.

#### 4.2.6. Proteína.

La proteína en la bebida fermentada mostró diferencia significativa ( $p \leq 0,05$ ), indicado en el (Gráfico 6), el mayor porcentaje (1,61) lo tiene el T3 promedio expuesto por el ANDEVA y el T0 con menor porcentaje (1,46), de acuerdo a la NTE INEN 2608:2012 Requisitos de Bebida fermentada, el porcentaje mínimo de proteína es de 1,6, encontrándose dentro de lo establecido por la norma es el T3.

Según Mezquita (2012) (61), el en desarrollo de una bebida de alto contenido proteico a partir de algarrobo, lupino y quinoa, determinó su composición por análisis proximal, durante el almacenamiento de la bebida obtuvo un contenido de proteína de 1,36%, puesto que el T3 presenta un valor de 1,61% siendo mayor.

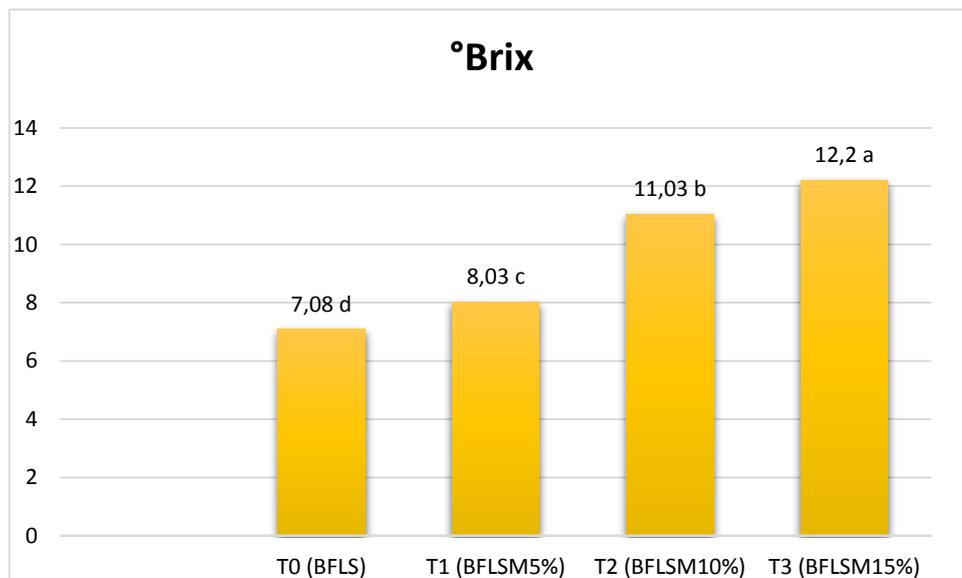


**Gráfico 6.** Análisis de proteína en los tratamientos de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional.

#### 4.2.7. °Brix.

Los grados brix que se encuentran reportados en el (Gráfico 7), donde se observa que el de mayor grado es el T3 con 12,2 °Brix, siendo el que contiene mayor cantidad de mucílago el mismo con 17°brix adicionado al 15%, diferenciándose con el de menor grado el T0 con 7,08 brix sin adición de mucílago. A diferencia de Guerrero (2011) (7), se observa claramente que el descenso de los °Brix dependen de la cantidad de inóculo, convirtiendo los azúcares en ácido láctico durante la fermentación debido a los porcentajes de adición de azúcares de sus tratamientos.

En cuanto a las medias de Londoño *et al.*(2008) (62), los sólidos solubles del día 1 al 21 (14,1°Bx y 14,3°Bx) respectivamente son mayores a los presentes, puesto que el T3 presenta el grado mayor de (12°Bx).



**Gráfico 7.** Análisis de °Brix en los tratamientos de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional.

**Tabla 15.** Análisis físico-químicos pH, acidez (%), humedad (%), sólidos totales (%), ceniza (%), proteína (%) y °Brix de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya (*Glycine max*) inoculada con mucílago de cacao nacional (*Theobroma cacao L.*).” FCP-UTEQ.2019.

<b>Parámetros Físico -Químicos</b>							
<b>Tratamiento</b>	<b>pH</b>	<b>Acidez (%)</b>	<b>Humedad (%)</b>	<b>Sólidos totales (%)</b>	<b>Ceniza (%)</b>	<b>Proteína (%)</b>	<b>°Brix</b>
<b>T0</b>	5,54 a	0,17 d	82,00 a	2,66 a	2,10 a	1,46 c	7,08 d
<b>T1</b>	5,06 b	0,23 c	83,75 a	2,63 a	2,01 ab	1,54 b	8,03 c
<b>T2</b>	4,72 c	0,32 b	89,50 a	2,49 ab	1,96 ab	1,54 b	11,03 b
<b>T3</b>	4,56 d	0,41 a	89,50 a	2,39 b	1,89 b	1,61 a	12,20 a
<b>X</b>	4,97	0,28	86,19	2,54	1,99	1,53	9,60
<b>C.V %</b>	1,44	1,78	4,67	4,26 <sup>(-)</sup>	3,89 <sup>(-)</sup>	2,06	3,52
<b>E.E.</b>	0,04	2,5	2,01	1,85	0,46	0,02	0,17
<b>P- Valor</b>	<0,0001	<0,0001	0,0419	0,0144	0,0160	0,0007	<0,0001
<b>s.e.</b>	**	**	ns	*	*	**	**

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ) (-)datos ajustados a raíz de  $n + 0,5$

### **4.3. Análisis Organolépticos realizados a la bebida fermentada.**

En la Tabla 16, según la escala evaluada para los atributos organolépticos y preferencia del mejor tratamiento, encontramos los promedios cuantitativos de las variables, olor y sabor a soya, suero mucílago y yogurt, color beige y blanco lechoso, gusto ácido y dulce, textura fluida y por último la muestra con más preferencia por los panelistas. Los atributos sensoriales de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional reportan diferencias estadísticas significativas ( $p \leq 0,05$ ), los resultados demuestran que los porcentajes generan influencia en la percepción de los panelista entre los tratamientos se empleó la prueba Kruskal- Wallis para más detalle (Ver Anexo 12).

**Tabla 16.** Análisis organoléptico de los atributos: olor, color, sabor, gusto, textura de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya (*Glycine max*) inoculada con mucílago de cacao nacional (*Theobroma cacao L.*).” FCP-UTEQ.2019.

TRATAMIENTOS	ATRIBUTO SENSORIAL												
	OLOR				COLOR		SABOR				GUSTO		TEXTURA
	Soya	Suero	Mucílago	Yogurt	Beige	Blanco lechoso	Soya	Suero	Mucílago	Yogurt	Dulce	Ácido	Fluidez
<b>T0</b> Bebida fermentada lactosuero 75% + soya 25%	1,53 b	3,10 d	1,00 a	1,00 a	3,33 b	1,2 b	2,97 c	3,80 c	1,00 a	1,00 a	1,97 b	2,53 a	3,00a
<b>T1</b> Bebida fermentada lactosuero 75% + soya 25% mucílago de cacao nacional 5%	1,90 b	2,00 c	1,77 b	1,00 a	3,00 a	1,10 ab	1,57 b	1,50 b	1,77 b	1,00 a	1,90 b	2,70 ab	3,00a
<b>T2</b> Bebida fermentada lactosuero 75% + soya 25% mucílago de cacao nacional 10%	1,13 a	1,53 b	2,27 c	1,60b	3,00 a	1,00 a	1,13 a	1,00 a	2,27 c	3,23 b	1,67 ab	3,03 bc	3,00a
<b>T3</b> Bebida fermentada lactosuero 75% + soya 25% mucílago de cacao nacional 15%	1,00 a	1,00 a	2,93 d	4,00 c	3,00 a	1,00 a	1,10 a	1,00 a	2,67 d	4,00 c	1,40 a	3,40 c	3,00a
<b>X</b>	1,39	1,91	1,99	1,90	3,08	1,08	1,69	1,83	1,93	2,31	1,74	2,92	3,00
<b>LI (0,05)</b>	0,74	0,49	0,70	0,37	2,82	0,92	0,29	0,30	0,78	0,15	1,33	2,30	3,14
<b>LS (0,05)</b>	2,04	3,33	3,29	4,17	3,35	1,23	3,09	3,95	3,07	4,76	2,14	3,53	3,70
<b>P- Valor</b>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0081	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0185
<b>S.E</b>	**	**	**	**	**	*	**	**	**	**	**	**	ns

Según prueba no paramétrica de Kruskal Wallis ( $p \leq 0,05$ )

### **4.3.1. Olor.**

- **Olor soya.**

Según el análisis de Kruskal Wallis en el atributo de olor a soya se encontró que el T0 (1,53) sin adición de mucílago con T1(1,90) con adición del 5% de mucílago fueron estadísticamente iguales difiriendo de los T2(1,13) Y T3 (1,00), con una media general de 1,39 un límite inferior de 0,74 y límite superior 2,04.

- **Olor suero.**

De acuerdo con el análisis de Kruskal Wallis el atributo olor a suero presento diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, reflejando el valor mayor al T0 (3,1) y el valor menor al T3 (1,00), en base a la escala de intervalo el T0 olor a suero moderado y el T3 nada de olor a suero.

- **Olor mucílago.**

Para el atributo olor a mucílago presentó diferencia significativa valorando al T3 como el valor más alto seguido del T2 con un límite inferior (0,70) y un límite superior (3,29) de acuerdo a la escala sensorial el T3 tiene un olor moderado a mucílago.

- **Olor yogurt**

El tratamiento que destacó en comparación del resto de tratamientos es el T3 con una valor de 4 siendo el mismo identificado en la escala organoléptica como “mucho”, esto se debe al contenido mayor de mucílago que contiene a diferencia del T0 Y T1 que presentaron los valores de 1 siendo nada, de esta manera se demuestra que existe diferencia significativa con un límite inferior (0,37) y superior (4,17).

### **4.3.2. Sabor**

- **Soya**

El atributo sabor a soya presento diferencia significativa el tratamiento T0 presento el valor mayor de (2,97) seguido del T1 (1,57) en comparación a los tratamientos T2 Y T3 que resultaron iguales, con una media de 1,69, con un límite inferior de 0,29 y superior de 3,09.

- **Suero**

Presentó diferencias significativas de acuerdo con Wallis con valoraciones mayores de 3,80 para el tratamiento T0 y la menor en los tratamientos T3 y T2 ya que son iguales, con un nivel de confianza del 95%, un límite inferior de 0,30 y superior de 3,95.

- **Mucílago**

En este atributo existe diferencia significativa y se debe a las diferentes adiciones mucílago adquiriendo la mayor valoración el T3 con (2,67) inoculado al 15% y el menor T0 con valoración 1 “nada”.

- **Yogurt**

El atributo más destacado y que presentó difiere en entre tratamientos es el T3 con una valoración de 4 significado muchos sabor a yogurt debido a la presencia de bacterias ácido lácticas.

### **4.3.3. Color**

- **Beige**

Los resultados de la prueba de Kruskal en este atributo organoléptico indican que no existe diferencia entre tratamientos.

- **Blanco lechoso**

Los resultados de la prueba de Kruskal en este atributo organoléptico indican que existe diferencia sin embargo no tan significativa ya que el T0 Y T1 son iguales, sin embargo difieren en el tratamiento T2 Y T3 que son iguales.

#### **4.3.4. Gusto**

- **Ácido**

El atributo ácido en cuanto al gusto presentó diferencia significativa entre tratamientos sin embargo, el valor mayor lo obtuvo el T3 (3,40) con 15% de mucílago y el menor T0 (2,53) con una media de 2,92.

- **Dulce**

La pruebas no paramétrica indica que existe diferencia estadística entre tratamientos sin embargo el T0 Y T1 tiene similitud ante el T2, el valor menor lo presenta el T3 (1,40) con una media de 1,74 con un límite inferior de 1,33 y superior de 2,14.

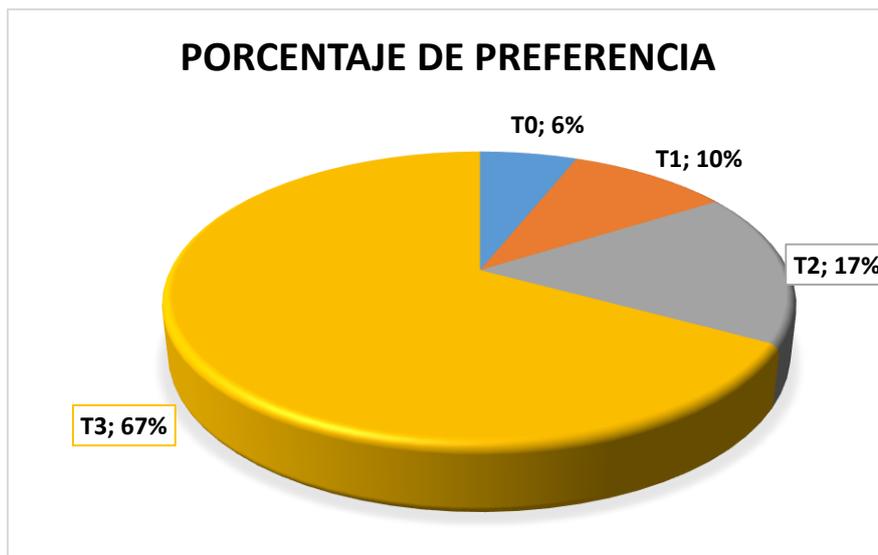
#### **4.3.5. Textura**

- **Fluidez**

La prueba no paramétrica en cuanto a la fluidez de los tratamientos no mostró diferencia significativa entre ellos con una media de 3,00, un límite inferior de 3,14y superior de 3,70.

#### **4.3.6. Prueba de preferencia por los panelistas.**

Mediante la prueba de preferencia realizada de acuerdo a los panelistas el tratamiento de mayor aceptación reflejando el mayor porcentaje T3 67% inoculado al 15% de mucílago y el de menor el T0 6% como testigo sin adición de mucílago, seguido del T2 que ocupa el un 17% de aceptación con un 10% de mucílago de cacao nacional. De tal manera que se confirma el mejor tratamiento el T3.



*Gráfico 8. Análisis de preferencia en los tratamientos de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional.*

#### **4.4. Análisis y estimación de vida útil de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional.**

La estimación de vida útil de la bebida fermentada realizada al mejor tratamiento T3 inoculado con mucílago de cacao al 15%, fue almacenada durante 20 días, con la finalidad de registrar su comportamiento, tomando en consideración el pH, acidez expresada en ácido láctico y el incremento microbiano de mohos y levaduras (Ver Anexo 13). Aplicando la ecuación de vidas medias descritas anteriormente se describe una cinética de primer orden (Anexo 15).

Un producto envasado asépticamente, tendrá una vida útil mayor de anaquel, favoreciendo condiciones de anaerobiosis o incluso modificar la atmósfera entre el alimento, el material de empaque y el lugar de almacenamiento, de tal manera que en tales condiciones contribuyan a que se pueda prolongar la vida útil de alimento. Un alimento logra alcanzar su estabilidad microbiológica después de ser expuesta a técnicas de conservación, previniendo el crecimiento microbiano. Entre el grupo de microorganismos que pueden desarrollarse en un alimento se encuentran: bacterias y hongo capaces de multiplicarse (63).

#### 4.4.1. pH.

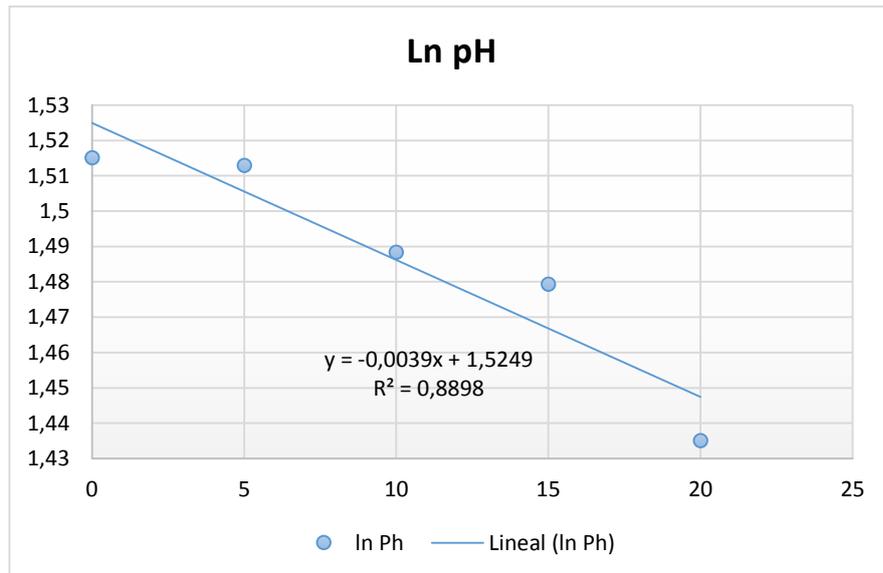
Los valores de pH se presentan en forma lineal decreciente en la (Figura 1) durante los 20 días de almacenamiento, obtenidos del (Anexo 14), con un inicio de 4,55 hasta 4,2 valores que frecuentan los productos de derivados lácteos fermentados. Los alimentos ácidos se distinguen por cuyo pH es menor de 4,6, y alimentos poco ácidos en los que el pH es mayor de 4,6 (64).

Como Molero, *et al* (2017) (65), en sus resultados de caracterización físico-química de dos bebidas fermentadas, sus valores iniciales de pH antes de la fermentación fueron (6,5), bebida uno con 4,85 y bebida dos con un valor de 5, el valor bajo indica el desarrollo del proceso de fermentación, con una evaluación de vida útil de 21 días bajo refrigeración.

$$\text{Ln (pH)} = 1,5249 + 0,0039t$$

Con un valor de  $r^2 = 0,8898$

Con los cálculos realizados del (Anexo 15), se obtuvo un valor de estimación de vida útil de 24 días.



**Figura 1.** Método lineal de pH al mejor tratamiento a bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional.

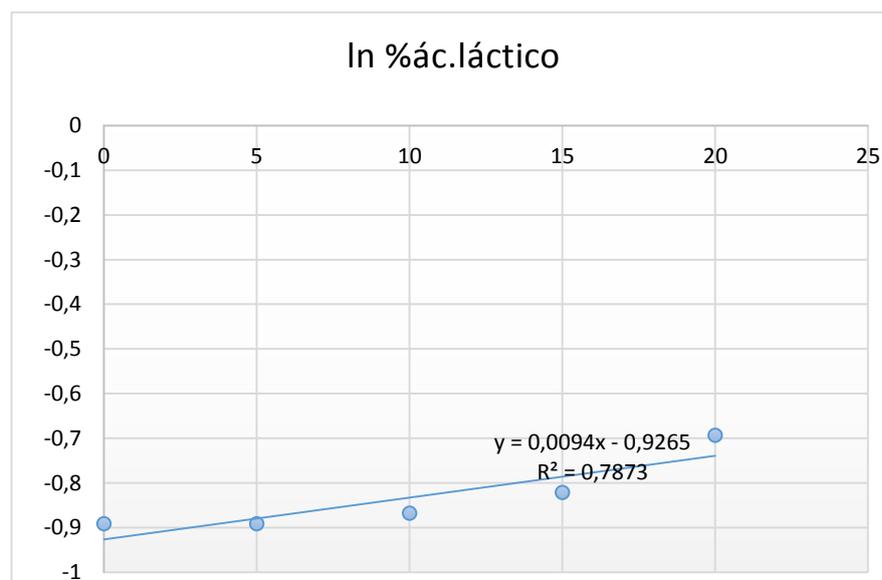
#### 4.4.2. Acidez.

En el caso de acidez de los valores obtenidos (Ver Anexo 14) van incrementando en relación al tiempo, lo que indica que la fermentación no se detuvo durante el almacenamiento (Ver Figura 2).

$$\text{Ln (Acidez)} = -0,9265 + 0,0094x$$

Con un valor de  $r^2 = 0,7873$

Con los cálculos realizados del (Anexo 15) se obtuvo un valor de estimación de vida útil de 25 días.



**Figura 2.** Método lineal del %ac.láctico al mejor tratamiento de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional.

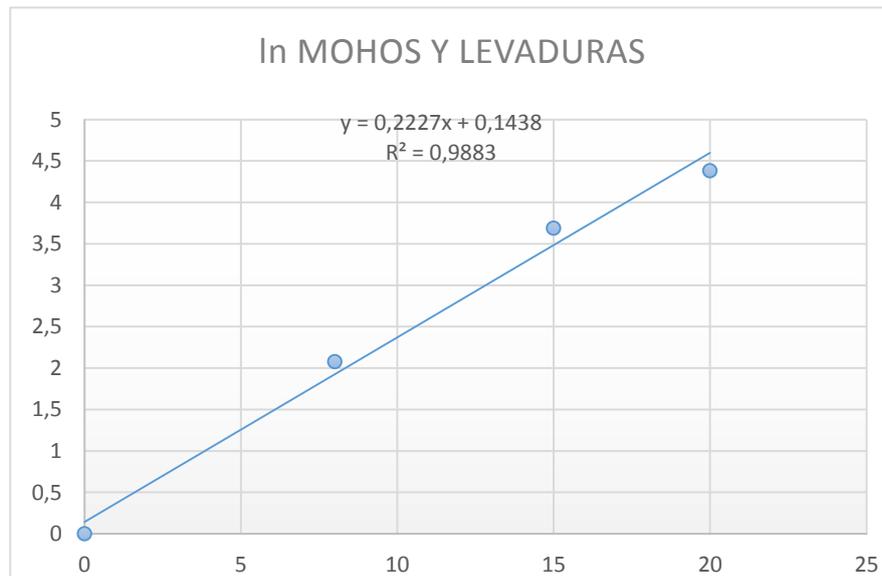
### 4.4.3. Análisis de mohos y levaduras.

La presencia de mohos y levaduras no debe pasar con lo requerido en la NTE INEN 2608:2012 que indica el mínimo de 100UFC, por ende el T3 identificado como el mejor tratamiento con una cantidad de 0 UFC los primeros días y 80 UFC los últimos 20 días expresados en forma lineal (Figura 3) de los valores obtenidos del (Anexo 14) afirmando que el producto fue elaborado bajo estos requerimientos por lo tanto puede ser considerado como un producto apto para el consumo humano.

$$\text{Ln (Mohos y levaduras)} = 0,6931 + 0,2156$$

Con un valor de  $r^2 = 0,9883$

Con los cálculos realizados del (Anexo 15) se obtuvo un valor de estimación de vida útil de 17 días.



**Figura 3.** Método lineal de Mohos y levaduras al mejor tratamiento de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional.

#### **4.5. Análisis microbiológico de las BAL y coliformes en el mucílago de cacao nacional fermentado 48 horas.**

Los análisis de las BAL homofermentativas y heterofermentativas realizados a las 48 horas de fermentación tomados como referencia de Verdezoto, D (2017) (8) indicando que a las 48 horas se registra el mayor recuento de UFC  $2,47 \times 10^5$ , demostrando así la presencia de dichos microorganismos en el mucílago fermentado con un valor mayor de  $2 \times 10^5$  como lo indica la (Tabla 17). En cuanto a los coliformes totales realizados registro ausencia de UFC los mismos que se encuentran dentro de la NTE INEN 2395-2011 que indica como mínimo  $<10\text{UFC}$ .

#### **4.6. Análisis de viabilidad microbiológica de las BAL en la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional.**

Los análisis de viabilidad microbiológica de las BAL realizados a los tratamientos durante 20 días cada 5 días de las bebidas fermentadas a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional en diferentes porcentajes, identificadas por el método Petri-film de  $1,2 \times 10^7$  UFC lo cuál denota que dichos microorganismos se encuentran presentes en los tratamiento T2 y T3 del producto obtenido y que los mismos sobrepasan con los requerimientos mínimos, a diferencia del T0 y T1 que su cantidad es más bajo del requerimiento mínimo para confirmar lo dicho, observar la (Tabla 18).

Según Ramírez, J (2011) (15), la mayoría de las bacterias ácido lácticas crece a pH entre 4 y 4,5, permitiéndoles sobrevivir naturalmente, puesto que la bebida fermentada en los tratamientos T2 (4,72) y T3(4,56) cuenta con dichas condiciones de pH (ver Tabla 15) confirma con los dispuesto, mientras que para los tratamientos T0(5,54) y T1 (5,06) sobrepasan las condiciones de sobrevivencia de las BAL para conferir con los dispuesto ver valores reflejados en la (Tabla 18).

Jiménez (2012) (66), indica en su trabajo elaboración de jugos de fruta con adición de bacterias ácido lácticas con potencial probióticos, mostraron la alta tolerancia a temperaturas de refrigeración luego de evaluar  $10^{10}$  UFC/mL, después de 30 días de almacenamiento las

cepas solo disminuyen dos logaritmos  $10^8$ , indicando que las bebidas pueden llegar hacer matrices efectivas adicionadas con microorganismos.

**Tabla 17.** *Análisis microbiológico de las BAL y coliformes en el mucílago de cacao nacional fermentado..*

<b>Unidad</b>	<b>Bacterias homo y heterofermentativas</b>	<b>Coliformes</b>
UFC/g	$1,2 \times 10^5$	ausencia

**Elaborado por:** Gema Muñoz 2019.

**Tabla 18.** *Análisis de viabilidad de las BAL en la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional.*

<b>TRATAMIENTO</b>	<b>Unidad</b>	<b>Día 0</b>	<b>Día 5</b>	<b>Día 15</b>	<b>Día 20</b>	<b>Método referencial aplicado</b>
<b>T0</b> BFLS	u.f.c/g	$5 \times 10^4$	$7 \times 10^4$	$7,3 \times 10^4$	$7,9 \times 10^4$	Petrifilm-BAL
<b>T1</b> BFLS5%	u.f.c/g	$1 \times 10^6$	$1.3 \times 10^6$	$2 \times 10^6$	$2,8 \times 10^6$	Petrifilm-BAL
<b>T2</b> BFLS10%	u.f.c/g	$1,5 \times 10^7$	$2 \times 10^7$	$3 \times 10^7$	$3,7 \times 10^7$	Petrifilm-BAL
<b>T3</b> BFLS15%	u.f.c/g	$2,5 \times 10^7$	$3 \times 10^7$	$3,8 \times 10^7$	$4 \times 10^7$	Petrifilm-BAL

**Elaborado por:** Gema Muñoz 2019.

#### 4.7. Análisis económico al mejor tratamiento de la bebida fermentada.

El análisis económico realizado al mejor tratamiento (T3) como lo indica la (Tabla 18) y los cálculos realizados el costo de producción para elaborar 32 litros de bebida fermentada es de \$26,48 y el precio de venta es de \$0,98 obteniendo un total de ingresos de \$31,36 para más detalles (Ver Anexo 18).

En comparación con las bebidas expendidas en el mercado se encuentra dentro del rango de utilidad del 20%, deduciendo así que el producto es rentable.

**Tabla 19.** *Análisis económico al mejor tratamiento de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional.*

<b>DETALLE</b>	<b>T3</b>
<b>Ingresos</b>	
Medida (mL)	32000
Precio x 1000ml	\$ 0,98
<b>Total ingresos</b>	<b>\$ 31,36</b>
<b>Egresos</b>	
<b>Costos variables</b>	
Materiales directos	\$ 9,62
Materiales indirectos	\$ 13,25
Mano de obra	\$ 3,16
<b>Total de costos variables</b>	<b>\$ 26,02</b>
<b>Costos fijos</b>	
Depreciación de maquinarias y equipos	\$ 0,45
<b>Total de costos fijos</b>	<b>\$ 0,45</b>
<b>Total Egresos</b>	<b>\$ 26,48</b>

**Elaborado por:** Gema Muñoz 2019.

## **CAPÍTULO V**

### **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

## 5.1. Conclusiones.

A base de los objetivos planteados y resultados obtenidos del proyecto de investigación se establecen las siguientes conclusiones:

- Se desarrolló una bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional, los análisis estadísticos establecen diferencia significativa en las respuestas experimentales por lo que se determinó el T3 como mejor tratamiento destacando en los parámetros físico-químicos con 15% de mucílago,, el cuál registró datos de pH (4,56), acidez expresada en ácido láctico (0,41%), °Brix (12,20), proteína (1,61%), humedad (89,5%) los mismos que cumplen con los requisitos establecidos en la NTE INEN 2608:2012.
- Mediante la prueba de Kruskal-Wallis ( $p \leq 0,05$ ), indica que existió diferencia significativa entre tratamientos respecto a los atributos organolépticos de olor, color, sabor, gusto a excepción de textura que no mostró diferencia significativa se concluye que el T3 presentó mejores resultados en cuanto a la escala de valoración que indica 1 nada y 4 mucho.
- El tiempo de vida útil bajo refrigeración para el mejor tratamiento T3 bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional al 15%, bajo los requerimientos de pH y acidez obtuvo una vida útil de 25 días sin embargo, para la calidad microbiológica de *mohos* y *levaduras* fue de 17 días de acuerdo con la NTE INEN 2608:2012.
- Se determinó la viabilidad de las bacterias ácido lácticas, presentando aumentos durante los 20 días de almacenamiento, siendo el T3 con mayor contenido ( $4 \times 10^7$ ), a diferencia del T0 que no contenía mucílago de cacao nacional con ( $7,9 \times 10^5$ ) de BAL.
- El análisis económico realizado al mejor tratamiento T3 bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional al 15%, con un precio de \$0,98ctvs el litro y con una utilidad del 20%.

## **5.2. Recomendaciones.**

- Retirar la placenta de las almendras de cacao y dejar reposar 2 horas como máximo para facilitar la extracción y obtener mayor mucílago.
- Se recomienda realizar estudios del comportamiento de la fermentación láctica en bebidas fermentadas inoculadas con BAL.
- Investigar alternativas de remojo para los granos de soya que faciliten el retiro de la cascara.

**CAPÍTULO VI**  
**BIBLIOGRAFÍA**

1. Villavicencio MN de. Desarrollo De Bebida Fermentada a Partir De Suero Requesón. Arbor [Internet]. 2016;166(653):127-39. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/318887916\\_Desarrollo\\_De\\_Bebida\\_Fermentada\\_a\\_Partir\\_De\\_Suero\\_Requeson](https://www.researchgate.net/publication/318887916_Desarrollo_De_Bebida_Fermentada_a_Partir_De_Suero_Requeson)
2. Altamirano CAN. Elaboracion de una bebida fermentada a base de suero lácteo con pulpa de manzana Emilia (Malus comuni -L). Universidad Técnica de Ambato; 2006.
3. Rodríguez-Herna, Hernández-Aldo. Desarrollo de una bebida fermentada de suero con la adición de jugo de Aloe vera y pulpa de fruta. Scielo [Internet]. 2016;37:11. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/rtq/v37n1/rtq05117.pdf>
4. Migdalia Arazo, Aldo Hernández, Dinelis Rodriguez , Yeiley Alejo CD. Elaboración de una bebida de lactosuero fermentada con cultivos probióticos. Arbor. 2016;166(653):127-39.
5. Vanegas Pérez LS, Restrepo Molina DA, López Vargas JH. Características De Las Bebidas Con Proteína De Soya. Rev Fac Nac Agron Medellín [Internet]. 2009;62(2):5165-75. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v62n2/a15v62n2.pdf>
6. Sue Stolton ND. El Crecimiento de la Soja: Impactos y Soluciones WWF International [Internet]. Brasil: WWF – Organización Mundial de Conservación (anteriormente Fondo Mundial para la Naturaleza); 2014. 50 p. Disponible en: [file:///C:/Users/Nestor/Downloads/reporte\\_final\\_soja\\_esp\\_3.pdf](file:///C:/Users/Nestor/Downloads/reporte_final_soja_esp_3.pdf)
7. Guerrero J. «Utilización de probióticos (Lactobacillus plantarum) en la elaboración de una bebida de soya» [Internet]. Universidad Técnica de Ambato; 2011. Disponible en: <http://repo.uta.edu.ec/bitstream/123456789/3269/1/PAL258.pdf>
8. Quinatoa DCV. “Aislamiento e identificación de bacterias ácido lácticas (BAL) presentes en el mucílago de cacao (Theobroma cacao L.) Trinitario y Nacional”. Universidad técnica estatal de quevedo; 2017.
9. Miranda JTC. “Utilización de las bacterias ácido lácticas provenientes del mucílago de cacao (Theobroma Cacao L.) nacional para mejorar el sabor y textura del queso mozzarella. Universidad tecnica estatal de quevedo; 2019.
10. Samaniego MEV. Elaboración y Evaluación Nutricional de una Bebida Proteica para Infantes a Base de Lactosuero y Leche de Soya. [Internet]. Vol. Bachelor. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2011. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/1583>
11. Macías PKS. Mucílago de cacao (Theobroma cacao L.), nacional y trinitario para la

- obtención de una bebida hidratante [Internet]. Universidad Técnica Estatal de Quevedo; 2017. Disponible en: <http://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/2262/1/T-UTEQ-0033.pdf>
12. López MIC. Evaluación del consumo de alimentos procesados en los adolescentes de la sección diurna del colegio nacional mixto Eloy Alfaro de la Ciudad de Quito y la comparación con su estado nutricional en el año 2012 [Internet]. Pontificia Universidad Católica del Ecuador; 2013. Disponible en: <http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/5998/T-PUCE-6266.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
  13. Adolfo R, Huertas P. Lactosuero: importancia en la industria de alimentos. Rev Fac Nac Agron Medellín [Internet]. 2008;62(1):4967-82. Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/refame/article/view/24892>
  14. Newman A, Molina D, Santos F Dos, Herrera I, Calder M, Toro Y. La soya [Internet]. Caracas; 2007. Disponible en: <https://www.inn.gob.ve/pdf/docinves/lasoya.pdf>
  15. José Carmen Ramírez Ramírez<sup>1</sup>, Petra Rosas Ulloa<sup>2</sup>, Martha Yanira Velázquez González<sup>1</sup>, José Armando Ulloa<sup>2</sup> FAR. Bacterias lácticas: Importancia en alimentos y sus efectos en la salud. J Magn Reson Imaging [Internet]. 2011;32(3):16. Disponible en: <http://fuente.uan.edu.mx/publicaciones/03-07/1.pdf>
  16. Santambrosio E, Ortega M, Garibaldi P. Catedra de Biotecnología, Trabajo práctico n°3 «Siembra y recuento de microorganismos» [Internet]. Vol. 1. 2009. Disponible en: [https://www.frro.utn.edu.ar/repositorio/catedras/quimica/5\\_anio/biotecnologia/practicoIII.pdf](https://www.frro.utn.edu.ar/repositorio/catedras/quimica/5_anio/biotecnologia/practicoIII.pdf)
  17. Andrés CPL. Elaboración de una bebida fermentada utilizando suero de queso mozzarella enriquecida con harina de maíz germinado. Universidad técnica del norte; 2011.
  18. Poveda E. Suero lácteo , generalidades y potencial uso como fuente de calcio de alta biodisponibilidad. Rev Chil Nutr [Internet]. 2013;40(397):397-403. Disponible en: <https://bit.ly/2QyHrX3>
  19. Rosas FB. Desarrollo de proceso de factores combinados. 1990;13-5. Disponible en: <https://www.uaa.mx/investigacion/revista/archivo/revista1/Articulo 4.pdf>
  20. Hernández Rojas VR. Suero de leche y su aplicación en la elaboración de alimentos funcionales. 2014;13-22. Disponible en: <http://web.udlap.mx/tsia/files/2015/05/TSIA-82-Hernandez-Rojas-et-al-2014.pdf>

21. Ramiro L, Gurrola C, Chávez-martínez A, Rentería-monterrubio ANAL, Rodríguez-figueroa JC. Proteínas del lactosuero: Usos, Relación Con La Salud Y Bioactividades. 2017;42(November):712-8.
22. Marino C, Barrera C, Sedó P. Beneficios de los lácteos. 2014;6. Disponible en: [http://sialaleche.org/wp-content/uploads/2015/09/Fepale\\_Folleto\\_tecnico\\_Biblioteca.pdf](http://sialaleche.org/wp-content/uploads/2015/09/Fepale_Folleto_tecnico_Biblioteca.pdf)
23. Ramón Guevara Albarracin JMV. Elaboracion de yogurt a partir de suero de leche. [Internet]. Universidad de Guayaquil; 2011. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/4650/1/T163.pdf>
24. Chóez J, Morales M. Elaboración de una bebida hidratante a base de lactosuero y enriquecida con vitaminas. 2007;1(1). Disponible en: [https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/14850/1/Elaboracion de una bebida hidratante a base de lactosuero.pdf](https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/14850/1/Elaboracion%20de%20una%20bebida%20hidratante%20a%20base%20de%20lactosuero.pdf)
25. Edgardo Ridner. Soja propiedades nutricionales y su impacto en la salud [Internet]. 1aed. Vol. La edición, Assiut Journal of Environmental Studies. Buenos Aires; 2006. 43 p. Disponible en: <http://www.sanutricion.org.ar/files/upload/files/soja.pdf>
26. Jiménez A de L. Valor Nutritivo de la Proteína de Soya. Investig Cienc [Internet]. 2006;36:29-34. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=67403606>
27. Enrique Ampuero Pareja, Ricardo Guaman Jimenez, Fausto Tapia Francia, Valeria Bolaños Zuñiga LSC. Iniap 310, Variedad de soya de alto rendimiento y calidad de grano. 2014;16. Disponible en: <http://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/2012/1/iniaplbsd441.pdf>
28. Yoel GCM. Origen y desarrollo de la variedad de soya (Glycine max (L) Merrill.) INIAP 310 de alto rendimiento y calidad de grano [Internet]. Universidad Católica Santiago de Guayaquil; 2015. Disponible en: <http://repo.uta.edu.ec/handle/123456789/20671%0Ahttp://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/1381/1/UNACH-EC-AGR-2016-0002.pdf>
29. Jiménez A de L. Composición y Procesamiento de la Soya para Consumo Humano. Investig y Cienc la Univ Autónomade aguascalientes [Internet]. 2007;6934 LNAI:35-43. Disponible en: [http://www.uaa.mx/investigacion/revista/archivo/revista37/Articulo 5.pdf](http://www.uaa.mx/investigacion/revista/archivo/revista37/Articulo%205.pdf)
30. Raul Hernando Rocha Vargas SACM. Elaboración de una bebida a base de leche de soya y ahuyama fortificada con hierro y calcio,para adultos mayores. [Internet]. Universidad de la Salle; 2006. Disponible en:

- <http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/15582/00798447.pdf>
31. Saavedra NMG. Bebidas Vegetales [Internet]. Universidad Complutense; 2017. Disponible en: [http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/natalia\\_moraleja\\_garcia-saavedra.pdf](http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/natalia_moraleja_garcia-saavedra.pdf)
  32. Vassallo M. Diferenciación y agregado de valor en la cadena ecuatoriana del cacao [Internet]. 1ª. ed. Quito; 2015. 156 p. Disponible en: <https://editorial.iaen.edu.ec/wp-content/uploads/2016/06/Cadena-del-cacao-en-Ecuador.pdf>
  33. Arteaga Estrella Y. Estudio Del Desperdicio Del Mucilago De Cacao En El Cantón Naranjal (Provincia Del Guayas) Mucilago Waste Research in El Naranjal City (Guayas Province). 2013;4:49-59. Disponible en: <http://www.anecacao.com/index.php/es/asistencia-tecnica/articulos-tecnicos.html>
  34. Vallejo C, Díaz Ocampo R, Morales W, Velasco R, Vera J, Baren C. Utilización del mucílago de cacao, tipo nacional y trinitario, en la obtención de jalea. Espamciencia [Internet]. 2016;7(1):51-8. Disponible en: <http://www.uteq.edu.ec/doc/page/35/Grupos> de Investigación/APRODEFRUTA/Utilización del mucílago tipo nacional y trinitario, en la obtención de jalea.pdf
  35. Caballero Coto Kevin ORK. Proyecto de Factibilidad de la Industria productora de Licor , Zumo y Mermelada de Mucilago de Cacao en la Ciudad de Guayaquil [Internet]. Universidad Católica de Santiago de Guayaquil; 2017. Disponible en: <http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/9252/1/T-UCSG-PRE-ECO-ADM-423.pdf>
  36. Johanna Marleny Rojas Sosa EDRM. Aprovechamiento del Mucilago de Cacao (Theobroma Cacao) en la Formulación de una Bebida no Alcohólica [Internet]. Universidad Nacional «Pedro Ruiz Gallo»; 2017. Disponible en: <http://repositorio.unprg.edu.pe/handle/UNPRG/2684>
  37. Anchundia LEC. Caracterización de bacterias ácido lácticas presentes en el mucílago de cacao (Theobroma cacao L.) Nacional y Trinitario, Quevedo, Ecuador 2016. Universidad Técnica estatal de Quevedo; 2017.
  38. Wessels S, Axelsson L, Bech Hansen E, De Vuyst L, Laulund S, Lähteenmäki L, et al. The lactic acid bacteria, the food chain, and their regulation. Trends Food Sci Technol [Internet]. 2004;15(10):498-505. Disponible en: [http://www.dzumervis.nic.in/Taxonomy/pdf/The\\_lactic\\_acid\\_bacteria.pdf](http://www.dzumervis.nic.in/Taxonomy/pdf/The_lactic_acid_bacteria.pdf)
  39. Rivera DM. Estreptococo Beta Hemolítico grupo A (Streptococcus pyogenes).

- Honduras pediátrica [Internet]. 1998;19:47-50. Disponible en: <http://www.bvs.hn/RHP/pdf/1998/pdf/Vol19-2-1998-7.pdf>
40. Diaz M, Rodriguez C, Raisa D. Aspectos fundamentales sobre el género *Enterococcus* como patógeno de elevada importancia en la actualidad. *Rev Cubana Hig Epidemiol* [Internet]. 2010;48(2):147-61. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/hie/v48n2/hie06210.pdf>
  41. Miren Zumárraga FB. *Pediococcus* como bacteria alterante del vino. *Guserbiot* [Internet]. 2009;1641-7. Disponible en: <http://www.guserbiot.com/pdf/Pediococcus.pdf>
  42. Uña Izquierdo F, Sánchez Ortiz I, Pedraza Olivera R, Arenal Cruz A. *Lactobacillus pentosus* en la alimentación animal. Artículo de revisión. *Rev Prod Anim* [Internet]. 2017;29(1):7-15. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/rpa/v29n1/rpa02117.pdf>
  43. Rosell, Danais Vidal, María de los Ángeles Fernández Ferrer CAS. Meningitis bacteriana por *Lactococcus lactis cremoris* [Internet]. Vol. 60, *Revista Cubana de Medicina Tropical*. Ciudad de la Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2008 [citado 21 de julio de 2019]. 0-0 p. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0375-07602008000300015&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602008000300015&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
  44. Cicotello J. *Leuconostoc* en la industria de alimentos: comportamiento en condiciones de estrés tecnológico. Joaquín Cicotello. *Inst Lactol Ind (Universidad Nac del Litoral – Cons Nac Investig Científicas y Técnicas)* [Internet]. 2016;21:4. Disponible en: <http://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8080/colecciones/bitstream/handle/123456789/8525/8.3.5.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
  45. Laursen BG, Bay L, Cleenwerck I, Vancanneyt M, Swings J, Dalgaard P, et al. *Carnobacterium divergens* and *Carnobacterium maltaromaticum* as spoilers or protective cultures in meat and seafood: Phenotypic and genotypic characterization. *Syst Appl Microbiol* [Internet]. 2005;28(2):151-64. Disponible en: [http://dzumervis.nic.in/Taxonomy/pdf/Carnobacterium divergens and Carnobacterium.pdf](http://dzumervis.nic.in/Taxonomy/pdf/Carnobacterium_divergens_and_Carnobacterium.pdf)
  46. Serna L, Enríquez CE. Antimicrobial activity of *Weissella confusa* and its metabolites against *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Rev Colomb Biotecnología* [Internet]. 2013;XV(2):63-70. Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/34979/43497>
  47. Roberto Pacheco, Julián Echeverry DE. Filtración [Internet]. p. 11. Disponible en:

- <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=5&ved=2ahUKEwjn46LI78zjAhWRo1kKHSPHAAgQFjAEegQIBRAC&url=https%3A%2F%2Fclaicarubio-quil.jimdo.com%2Fapp%2Fdownload%2F10330104683%2Ffiltracion%2B.pdf%3Ft%3D1503443739&usg=AOvVaw2vt4NYaHDJ2psFKDCx>
48. Tirado DF, Yacub B, Cajal J V, Murillo L, Leal RF, Franco MY, et al. Pasteurizador de leche para la elaboración de suero costeño 1 Milk pasteurizer for the elaboration of sour cream Pasteurizador de leite para a elaboração de soro “costeiro”. *Entre Ciencia e Ing* [Internet]. 2017;11(21):36-41. Disponible en: <http://biblioteca.ucp.edu.co/OJS/index.php/entrecei/article/view/3275>
  49. Villacrés P. La Pasteurización y sus Beneficios. *La Pasteurizacion y sus Benef* [Internet]. 2010;2. Disponible en: [http://oldwww.espoch.edu.ec/Descargas/facultadpub/PasteurizacionFCP\\_e09be.pdf](http://oldwww.espoch.edu.ec/Descargas/facultadpub/PasteurizacionFCP_e09be.pdf)
  50. Digital D. Enfriamiento de los Alimentos [Internet]. EEUU; 2016. Disponible en: [https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&ved=2ahUKEwi30d6x98zjAhUBwFkKHWDHAZEQFjABegQIDBAE&url=https%3A%2F%2Ftheicn.org%2Fresources%2F521%2Ffood-safety-fact-sheets%2F107113%2Fenfriamiento-de-los-alimentos.pdf&usg=AOvVaw3w4\\_XOkwEPPb4](https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&ved=2ahUKEwi30d6x98zjAhUBwFkKHWDHAZEQFjABegQIDBAE&url=https%3A%2F%2Ftheicn.org%2Fresources%2F521%2Ffood-safety-fact-sheets%2F107113%2Fenfriamiento-de-los-alimentos.pdf&usg=AOvVaw3w4_XOkwEPPb4)
  51. Enfriamiento IA for FP. Correcto Enfriamiento y Conservación de Alimentos [Internet]. International Dairy-Deli-Bakery Association. 2013. Disponible en: <https://www.iddba.org/training-materials/pdfs/jg-chilling-es.aspx?ext=.pdf>
  52. Corrales L, Antolinez D, Bohórquez J, Corredero A. Anaerobic bacteria: processes they perform and their contribution to life sustainability on the planet. *Nova* [Internet]. 2015;13:55-81. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v13n24/v13n24a06.pdf>
  53. Leon F. Envases, Empaques y Embalajes. 2013;35. Disponible en: <https://licenciadofelipeleon.files.wordpress.com/2012/06/envases-2013-material.pdf>
  54. Sandra Karolina Abril Hinojosa JEÁM. Análisis de bioseguridad en servicio de alimentación Unidad de Negocio Hidropaute. CELEC-EP, noviembre-diciembre, 2016 [Internet]. Universidad de Cuenca; 2017. Disponible en: [http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/27266/1/Proyecto de investigación.pdf](http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/27266/1/Proyecto%20de%20investigacion.pdf)
  55. INAMHI. Anuario Meteorológico Nro 51-2011. Dir Gestión Meteorológica

- [Internet]. 2014;51:149. Disponible en: [http://www.serviciometeorologico.gob.ec/wp-content/uploads/anuarios/meteorologicos/Am\\_2011.pdf](http://www.serviciometeorologico.gob.ec/wp-content/uploads/anuarios/meteorologicos/Am_2011.pdf)
56. Jiménez Paneque R. Metodología de la investigación. J Chem Inf Model [Internet]. 1998;53(9):95. Disponible en: [http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/rehabilitacion-doc/metodologia\\_dela\\_investigacion-texto.pdf](http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/rehabilitacion-doc/metodologia_dela_investigacion-texto.pdf)
  57. ANDRÉS APO. Evaluación de la acidez titulable en la elaboración de yogurt en base a la norma INEN 2395 en lácteos nacionales. [Internet]. UTMACH; 2016. Disponible en: <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/7661/1/alcivar.pdf>
  58. Hernández-monzón CA. Desarrollo de una bebida elaborada con harina de arroz y ajonjolí (*Sesamum Indicum*) y fermentada con cultivos probióticos. Scielo [Internet]. 2019;39:89-104. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/rtq/v39n1/2224-6185-rtq-39-01-89.pdf>
  59. Villacís DR. Bebida de suero fermentado con la adición de jugo de sábila ( *Aloe vera* L .) y pulpa de mora ( *Rubus glaucus* Benth ) con características probióticas Whey fermented drink with the addition of sabila juice ( *Aloe vera* L .) and blackberry pulp ( *Rubus glaucu*. Scielo [Internet]. 2019;39:301-17. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/rtq/v39n2/2224-6185-rtq-39-02-301.pdf>
  60. Pastrana YI, Durango AM, Paula CD De. Caracterización Físicoquímica, Bromatológica y Microbiológica de Bebidas Autóctonas de Córdoba, Colombia. Scielo [Internet]. 2015;26(4):53-62. Disponible en: [https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0718-07642015000400008](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642015000400008)
  61. Mezquita PC, Barrientos EA, Valdivia GR, Palacios NR, Zavala RA. Desarrollo de una bebida de alto contenido proteico a partir de algarrobo , lupino y quinoa para la dieta de preescolares. Scielo [Internet]. 2012;27(1):232-43. Disponible en: [http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v27n1/30\\_original\\_19.pdf](http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v27n1/30_original_19.pdf)
  62. Con I, María M, Uribe L, Uriel J, Valencia S, Hernández A, et al. Bebida fermentada de suero de queso fresco inoculada con *Lactobacillus casei*. Scielo [Internet]. 2008;61(1):4409-21. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v61n1/a17v61n1.pdf>
  63. Munguía AR. Vida útil de los alimentos. Rev Iberoam las Ciencias Biológicas y Agropecu [Internet]. 2007;2:25. Disponible en: <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=2ah>

UKEwjtzKmpq8DlAhUB2FkKHcD7D-

0QFjAAegQIABAC&url=https%3A%2F%2Fdigitalnet.unirioja.es%2Fdescarga%2Farticulo%2F5063620.pdf&usg=AOvVaw1sbQS4SqJ8HKvF\_rJlamin

64. Pelegero MM. Estudios de vida útil de zumos de fruta envasados. [Internet]. UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA; 2016. Disponible en: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/69202/PORCAR - Estudios de vida útil de zumos de fruta envasados..pdf?sequence=1>
65. Molero Méndez Mónica, Cateryna Aiello Mazzarri, José Araujo Morillo WBZ. Calidad físico-química, microbiológica y vida útil de bebidas probióticas fermentadas a base de lactosuero. Rev Científica [Internet]. 2017;XXVII:6. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/959/95953315002.pdf>
66. Jiménez JAS. Elaboración de jugos de fruta con adición de bacterias ácido lácticas con potencial probiótico. [Internet]. Universidad de La Sabana; 2012. Disponible en: [https://intellectum.unisabana.edu.co/bitstream/handle/10818/3633/Johanna Serna Jiménez\\_157728.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://intellectum.unisabana.edu.co/bitstream/handle/10818/3633/Johanna_Serna_Jiménez_157728.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

**CAPÍTULO VII**  
**ANEXOS.**

## Anexo 1. Norma INEN 176:2006 Requisitos Mucílago de cacao.

NTE INEN 176

2006-10

**3.8 Grano de buena fermentación.** Grano fermentado cuyos cotiledones presentan en su totalidad una coloración marrón o marrón rojiza y estrías de fermentación profunda. Para el tipo CCN51 la coloración variará de marrón a marrón violeta.

**3.9 Grano infestado.** Grano que contiene insectos vivos en cualquiera de sus estados biológicos.

**3.10 Grano seco.** Grano cuyo contenido de humedad no es mayor de 7,0% (cero relativo).

**3.11 Impureza.** Es cualquier material distinto a la almendra de cacao (maguey, vena y corteza de la mazorca de cacao).

**3.12 Cacao en baba.** Almendras de la mazorca del cacao recubiertas por una capa de pulpa mucilaginosa.

**3.13 Fermentación del cacao.** Proceso a que se somete el cacao en baba, que consiste en causar la muerte del embrión, eliminar la pulpa que rodea a los granos y lograr el proceso bioquímico que le confiere el aroma, sabor y color característicos.

### 4. CLASIFICACION

**4.1** Los cacaos del Ecuador por la calidad se clasifican, de acuerdo a lo establecido en la tabla 1, en ARRIBA y CCN51.

### 5. REQUISITOS

**5.1 Requisitos específicos.**

**5.1.1** El cacao beneficiado debe cumplir con los requisitos que a continuación se describen y los que se establecen en la tabla 1.

**5.1.2** El porcentaje máximo de humedad del cacao beneficiado será de 7,0% (cero relativo), el que será determinado o ensayado de acuerdo a lo establecido en la NTE INEN 173.

**5.1.3** El cacao beneficiado no debe estar infestado.

**5.1.4** Dentro del porcentaje de defectuosos el cacao beneficiado no debe exceder del 1% de granos partidos.

**5.1.5** El cacao beneficiado debe estar libre de: olores a moho, humo, ácido butírico (podrido), agroquímicos, o cualquier otro que pueda considerarse objetable.

**5.1.6** El cacao beneficiado, hasta tanto se elaboren las regulaciones ecuatorianas correspondientes debe sujetarse a las normas establecidas por la FAO/OMS, en cuanto tiene que ver con los límites recomendados de aflatoxinas, plaguicidas y metales pesados.

**5.1.7** El cacao beneficiado debe estar libre de impurezas y materias extrañas.

*(Continúa)*

TABLA 1. Requisitos de calidad del cacao en grano beneficiado

REQUISITOS	UNIDAD	ARRIBA					CCN51
		A.S.S.P.S	A.S.S.S	A.S.S	A.S.N.	A.S.E.	
Cien granos pesan	g	135-140	130-135	120-125	110-115	105-110	135-140
Buena fermentación (mín.)	%	75	65	60	44	26	***65
Ligera fermentación* (mín.)	%	10	10	5	10	27	11
Violeta (máx.)	%	10	15	21	25	25	18
Pizarroso (pastoso) (máx)	%	4	9	12	18	18	5
Moho (máx.)	%	1	1	2	3	4	1
TOTALES ( análisis sobre 100 pepas)	%	100	100	100	100	100	100
Defectuosos ( análisis sobre 500 gramos) (máx).	%	0	0	1	3	**4	1
TOTAL FERMENTADO (mín.)	%	85	75	65	54	53	76
A.S.S.P.S	Arriba Superior Summer Plantación selecta						
A.S.S.S	Arriba Superior Summer Selecto						
A.S.S.	Arriba Superior Selecto						
A.S.N.	Arriba Superior Navidad						
A.S.E.	Arriba superior Época						
* Coloración marrón violeta							
** Se permite la presencia de granza solamente para el tipo A.S.E.							
*** La coloración varía de marrón a violeta							

## 5.2 Requisitos complementarios.

**5.2.1** La bodega de almacenamiento debe presentarse limpia, desinfectada, tanto interna como externamente y protegida contra el ataque de roedores.

**5.2.2** Cuando se aplique plaguicidas, se deben utilizar los permitidos por la Ley para formulación, importación, comercialización y empleo de plaguicidas y productos afines de uso agrícola (Ley N° 739).

**5.2.3** No se debe almacenar junto al cacao beneficiado otros productos que puedan transmitirle olores o sabores extraños.

**5.2.4** Los envases conteniendo el cacao beneficiado deben estar almacenados sobre paletas (estibas).

## 6. INSPECCIÓN

### 6.1 Muestreo

**6.1.1** El muestreo se efectuará de acuerdo a lo establecido en la NTE INEN 177.

**6.1.2** *Aceptación o rechazo.* Si la muestra ensayada no cumple con los requisitos establecidos en esta norma, se considera no clasificada. En caso de discrepancia se repetirán los ensayos sobre una muestra reservada para tales efectos.

Cualquier resultado no satisfactorio en este segundo caso será motivo para reclasificar el lote.

(Continúa)

## Anexo 2. Norma INEN 2609:2012 Requisitos Lactosuero.

CDU: 637.142  
ICS: 67.100.99



CIU: 3112  
AL 03.01-452

Norma Técnica Ecuatoriana Voluntaria	BEBIDA DE SUERO. REQUISITOS	NTE INEN 2609:2012 2012-01
<p style="text-align: center;"><b>1. OBJETO</b></p> <p>1.1 Esta norma establece los requisitos que deben cumplir las bebidas de suero, es decir, que su ingrediente principal es el suero, destinadas a consumo directo.</p> <p style="text-align: center;"><b>2. DEFINICIONES</b></p> <p>2.1 Para los efectos de esta norma se adoptan las siguientes definiciones:</p> <p>2.1.1 <i>Bebida de suero.</i> Las bebidas de suero, son productos lácteos compuestos, obtenidas mediante la mezcla de suero, reconstituido o no, con agua potable, con o sin el agregado de otros ingredientes no lácteos, y aromatizantes.</p> <p>2.1.2 <i>Producto lácteo.</i> Es un producto obtenido mediante cualquier elaboración de la leche, que puede contener aditivos alimentarios y otros ingredientes funcionalmente necesarios para la elaboración.</p> <p>2.1.3 <i>Suero de leche ácido.</i> Es el producto lácteo líquido obtenido durante la elaboración del queso, la caseína o productos similares, mediante la separación de la cuajada tras la coagulación de la leche y/o los productos derivados de la leche. La coagulación se produce, principalmente, por acidificación.</p> <p>2.1.4 <i>Suero de leche dulce líquido.</i> Es el producto lácteo obtenido durante la elaboración del queso, la caseína o productos similares, mediante la separación de la cuajada, después de la coagulación de la leche y/o los productos derivados de la leche. La coagulación se obtiene mediante la acción de, principalmente, enzimas del tipo del cuajo.</p> <p>2.1.5 <i>Suero de leche dulce en polvo.</i> Producto obtenido a través del secado del suero de leche líquido dulce, previamente pasteurizado, sin adición alguna de conservantes</p> <p style="text-align: center;"><b>3. CLASIFICACIÓN SE APRUEBA</b></p> <p>3.1 Por su proceso, la bebida de suero se clasifica en:</p> <p>3.1.1 <i>Pasteurizada</i></p> <p>3.1.2 <i>Ultrapasteurizada</i></p> <p>3.1.3 <i>Esterilizada</i></p> <p>3.2 De acuerdo al contenido de lactosa:</p> <p>3.2.1 <i>Baja en lactosa o deslactosada</i></p> <p>3.2.2 <i>Parcialmente deslactosada</i></p> <p style="text-align: right;"><i>(Continúa)</i></p>		
DESCRIPTORES: Tecnología de los alimentos, leche y productos lácteos, otros productos lácteos, bebida de suero, requisitos.		

Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN – Casilla 17-01-3999 – Baquerizo Moreno Es-29 y Almagro – Quito-Ecuador – Prohibida la reproducción

#### 4. DISPOSICIONES GENERALES

4.1 El suero de leche dulce líquido o en polvo, destinado a la elaboración de la bebida de suero debe cumplir con la NTE INEN 2586 y/o NTE INEN 2594, y su procesamiento se realiza de acuerdo a los principios del Reglamento de Buenas Prácticas de Manufactura del Ministerio de Salud Pública.

4.2 Las bebidas de suero deben tener: textura, color, olor y sabor, característico de acuerdo a los ingredientes y/o aditivos adicionados.

4.3 Se permite la utilización de proteínas lácteas, sus péptidos y/o sus sales; ingredientes no lácteos solos o combinados; azúcares y/o endulzantes, maltodextrina, dextrosa, pulpa de fruta, jugos a base de frutas, miel, cereales vegetales, grasas vegetales; chocolate, café, especias, almidones o almidones modificados, gelatina entre otros. No se permite utilizar leche o leche reconstituida.

4.4 El suero debe representar por lo menos 50 % (m/m), del total de ingredientes del producto.

4.5 Los límites máximos de plaguicidas no deben superar los establecidos en el Codex Alimentarius CAC/ MRL 1, en su última edición.

4.6 Los límites máximos de residuos de medicamentos veterinarios no deben superar los establecidos en el Codex Alimentario CAC/MRL 2, en su última edición.

#### 5. REQUISITOS

##### 5.1 Requisitos Específicos

5.1.1 Las bebidas de suero, ensayadas de acuerdo con las NTE INEN correspondientes, deben cumplir con las especificaciones que se indican en la tabla 1.

**TABLA 1. Requisitos físico-químicos para la bebida de suero**

REQUISITOS	TIPO I		METODO DE ENSAYO
	Min.	Máx.	
Proteína láctea %	0,4	-	NTE INEN 16
Lactosa en el producto parcialmente deslactosado, %	--	1,4	AOAC 984.15 15 Edc. Vol 2.
Lactosa en el producto bajo en lactosa, %	--	0,85	AOAC 984.15 15 Edc. Vol 2.

5.1.2 *Requisitos microbiológicos.* Las bebidas de suero ensayadas de acuerdo con las NTE INEN correspondientes, deben cumplir con las especificaciones establecidas en la Tabla 2 para las bebidas de suero pasteurizadas y con el numeral 5.1.2.1 para las bebidas de suero, larga vida.

**TABLA 2. Requisitos microbiológicos para la bebida de suero, pasteurizada.**

Requisito	n	m	M	c	Método de ensayo
Recuento de microorganismos aerobios mesófilos ufc/g.	5	30 000	100 000	1	NTE INEN 1529-5
Recuento de <i>Escherichia coli</i> ufc/g.	5	< 10	-	0	NTE INEN 1529-8
<i>Staphylococcus aureus</i> ufc/g.	5	< 100	100	1	NTE INEN 1529-14
<i>Salmonella</i> /25g.	5	ausencia	-	0	NTE INEN 1529-15
Detección de <i>Listeria monocytogenes</i> /25 g	5	ausencia	-	0	ISO 11290-1

(Continua)

### 3. TÉRMINO Y DEFINICIÓN

Para los efectos de esta norma, se adopta la siguiente definición:

#### 3.1

##### **bebida de soya no fermentada**

Bebida cuyo principal ingrediente es la soya y/o sus derivados (por ejemplo harinas, concentrados o aislados de soya o soya desgrasada) y el agua que se produce sin proceso de fermentación<sup>1</sup>.

### 4. CLASIFICACIÓN

Las bebidas de soya no fermentada se clasifican en:

#### 4.1 Bebidas de soya básica o pura

Líquido lechoso preparado a partir de soya con proteína de elución y otros componentes en agua caliente o fría u otros medios físicos sin añadir ingredientes facultativos (5.2). Pueden eliminarse las fibras de los productos.

#### 4.2 Bebidas de soya compuestas o aromatizadas

Líquido lechoso que se obtiene al añadir ingredientes facultativos (5.2) a las bebidas de soya básicas (4.1). Comprenden productos como las bebidas de soya con azúcar u otros edulcorantes permitidos, las bebidas de soya con especias, las bebidas de soya con sustancias aromáticas naturales y/o artificiales de uso permitido y las bebidas de soya salada.

#### 4.3 Bebidas a base de soya

Líquido lechoso que se obtiene al añadir ingredientes facultativos (5.2) a las bebidas de soya básica (4.1) y cuyo contenido en proteínas es inferior al de las bebidas de soya compuestas o aromatizadas (4.2). Comprenden productos como bebidas de soya a las que ha sido añadida jugo, pulpa o concentrado de frutas.

### 5. REQUISITOS

5.1 Las bebidas de soya no fermentada deben emplear para su fabricación **ingredientes básicos** como:

- a) soya o derivado(s) de soya,
- b) agua,

5.1.1 Los granos de soya empleados en la fabricación de bebidas de soya no fermentada deben cumplir con NTE INEN 452.

5.1.2 El agua para elaborar las bebidas de soya no fermentada debe cumplir con NTE INEN 1108.

5.2 Se pueden añadir **ingredientes facultativos** a las bebidas de soya no fermentada entre los que se incluye:

- a) aceite comestible,

- b) azúcares o edulcorantes permitidos,
- c) sales,
- d) especias, aderezos y condimentos,
- e) vitaminas, minerales y otros nutrientes específicos de conformidad con la NTE INEN 1334-2,
- f) jugo, pulpa o concentrados de frutas.

5.3 Las bebidas de soya deben cumplir con los principios de Buenas Prácticas de Fabricación.

#### 5.4 Contenido de proteínas

Las bebidas de soya básica (4.1), bebidas de soya compuestas o aromatizadas (4.2) y las bebidas a base de soya (4.3) deben cumplir con el contenido de proteínas indicado en la Tabla 1.

TABLA 1. Contenido de proteínas para bebidas de soya no fermentada

Requisitos	Tipo			Métodos de ensayos <sup>a</sup>
	Bebidas de soya básica (4.1)	Bebida de soya compuestas o aromatizadas (4.2)	Bebidas a base de soya (4.3)	
Contenido de proteínas (g/100g)	≥ 2,0	≥ 2,0	≥ 0,8 pero < 2,0	NTE INEN-ISO 20483 o AOAC 988.05

<sup>a</sup> El factor de nitrógeno para productos de soya no fermentada es de 5,71.

#### 5.5 Aditivos Alimentarios

Únicamente las categorías funcionales de aditivos que se señalan en la Tabla 2 como tecnológicamente justificadas pueden utilizarse para las categorías de productos especificados en 4.1, 4.2 y 4.3. Dentro de cada categoría de aditivos, solo deben utilizarse los aditivos alimentarios enumerados y estrictamente con arreglo a las funciones y los límites indicados.

TABLA 2. Aditivos tecnológicamente justificados para bebidas de soya no fermentada

Aditivo alimentario/ categoría funcional	Bebidas de soya básica (4.1)	Bebida de soya compuestas o aromatizadas (4.2)	Bebidas a base de soya (4.3)
Reguladores de acidez	-	X	X
Antioxidantes	-	X	X
Colorantes	-	X	X
Emulsionantes	-	X	X
Agentes endurecedores	-	-	-
Acentuador del sabor	-	X	X
Conservantes	-	-	-
Estabilizadores	-	X	X
Edulcorantes	-	X	X

X = Se justifica desde el punto de vista tecnológico la utilización de aditivos alimentarios de categoría funcional  
 - = No se justifica desde el punto de vista tecnológico la utilización de aditivos alimentarios de la categoría funcional

## Anexo 4. Norma INEN 2608:2012 Requisitos de Bebida fermentada.

CDU: 637.146  
ICS: 67.100.01



CIIU: 3112  
AL 03.01-442

Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN – Casilla 17-01-3999 – Baquerizo Moreno E8-25 y Almagro – Quito-Ecuador – Prohibida la reproducción

Norma Técnica Ecuatoriana Voluntaria	BEBIDA DE LECHE FERMENTADA. REQUISITOS	NTE INEN 2608:2012 2012-03
<p style="text-align: center;"><b>1. OBJETO</b></p> <p><b>1.1</b> Esta norma establece los requisitos que deben cumplir las bebidas de leche fermentada, destinadas al consumo directo.</p> <p style="text-align: center;"><b>2. DEFINICIONES</b></p> <p><b>2.1</b> Para los efectos de esta norma se adoptan las siguientes definiciones:</p> <p><b>2.1.1</b> <i>Bebida de leche fermentada.</i> Producto lácteo de consistencia fluida a partir de la leche fermentada mezclada con otros derivados lácteos e ingredientes higienizados, los cultivos de microorganismos serán viables, activos y abundantes en el producto hasta la fecha de vencimiento. Si el producto es tratado térmicamente luego de la fermentación, no se aplica el requisito de microorganismos viables.</p> <p><b>2.1.2</b> <i>Leche fermentada.</i> Es el producto lácteo obtenido por medio de la fermentación de la leche, elaborado a partir de la leche por medio de la acción de microorganismos adecuados y teniendo como resultado la reducción del pH con o sin coagulación (precipitación isoelectrica).</p> <p><b>2.1.3</b> <i>Ingrediente.</i> Se entiende toda sustancia, incluidos los aditivos alimentarios, empleado en la fabricación o preparación de un alimento, que se encuentra en el producto final.</p> <p><b>2.1.4</b> <i>Suero de leche dulce líquido.</i> Es el producto lácteo obtenido durante la elaboración del queso, la caseína o productos similares, mediante la separación de la cuajada, después de la coagulación de la leche y/o los productos derivados de la leche. La coagulación se obtiene mediante la acción de, principalmente, enzimas del tipo del cuajo.</p> <p><b>2.1.5</b> <i>Suero de leche dulce en polvo.</i> Producto obtenido a través del secado del suero de leche líquido dulce, previamente pasteurizado, sin adición alguna de conservantes</p> <p><b>2.1.6</b> <i>Producto lácteo.</i> Es un producto obtenido mediante cualquier elaboración de la leche, que puede contener aditivos alimentarios y otros ingredientes funcionalmente necesarios para la elaboración.</p> <p style="text-align: center;"><b>3. CLASIFICACIÓN</b></p> <p><b>3.1</b> Por su proceso, la bebida de leche fermentada se clasifica en:</p> <p><b>3.1.1</b> <i>Pasteurizada</i></p> <p><b>3.2.2</b> <i>Ultrapasteurizada</i></p> <p><b>3.2.3</b> <i>Esterilizada</i></p> <p><b>3.3</b> De acuerdo al contenido de lactosa:</p> <p><b>3.3.1</b> <i>Baja en lactosa o deslactosada</i></p> <p><b>3.3.2</b> <i>Parcialmente deslactosada</i></p> <p style="text-align: right;"><i>(Continúa)</i></p> <hr/> <p>DESCRIPTORES: Tecnología de los alimentos, leche y productos lácteos procesados, leches fermentadas, requisitos</p>		

#### 4. DISPOSICIONES GENERALES

**4.1** La leche fermentada destinada a la elaboración de la bebida láctea en base a leche fermentada, debe cumplir con lo establecido en la NTE INEN 2395 y su procesamiento se realiza de acuerdo a los principios del Reglamento de Buenas Prácticas de Manufactura del Ministerio de Salud Pública.

**4.2** Características sensoriales: Las bebidas de leche fermentada deben tener el color, olor y sabor, característico de acuerdo a los ingredientes y/o aditivos adicionados.

**4.3** Se permite la utilización de ingredientes alimenticios, por ejemplo: derivados de leche reconstituidos o no ; ingredientes no lácteos solos o combinados, azúcares y/o endulzantes, maltodextrina, dextrosa, pulpa de fruta, jugos a base de frutas, miel, cereales, vegetales, chocolate, café, especias, almidones o almidones modificados, gelatina entre otros.

**4.4** La leche fermentada debe representar por lo menos 50 % (m/m), del total de ingredientes del producto.

**4.5** Los límites máximos de plaguicidas no deben superar los establecidos en el Codex Alimentarius CAC/ MRL 1, en su última edición.

**4.6** Los límites máximos de residuos de medicamentos veterinarios no deben superar los establecidos en el Codex Alimentario CAC/MRL 2, en su última edición.

#### 5. REQUISITOS

##### 5.1 Requisitos Específicos

**5.1.1** Las bebidas de leche fermentada, ensayadas de acuerdo con las NTE INEN correspondientes, deben cumplir con las especificaciones que se indican en la tabla 1.

**TABLA 1. Requisitos físico-químicos para bebidas de leche fermentada**

REQUISITOS	Min	Max	METODO DE ENSAYO
Materia grasa láctea %	-	3,0	NTE INEN 12
Proteína láctea	1,6	-	NTE INEN 16
Lactosa en el producto parcialmente deslactosado, %	--	1,4	AOAC 984.15
Lactosa en el producto bajo en lactosa, %	--	0,85	AOAC 984.15

**5.1.5** *Requisitos microbiológicos.* Las bebidas de leche fermentada, ensayadas de acuerdo con las NTE INEN correspondientes, deben cumplir con las especificaciones establecidas en la Tabla 2 para las bebidas lácteas en base a leche fermentada pasteurizada, y con el numeral 5.1.5.1 para las bebidas lácteas en base a leche fermentada larga vida

**TABLA 2. Requisitos microbiológicos para la bebida de leche fermentada.**

Requisito	n	m	M	c	Método de ensayo
Coliformes totales, UFC/g	5	10	100	2	NTE INEN 1529-7
Recuento de <i>E.coli</i> , UFC/g	5	<1	-	0	AOAC 991.14
Recuento de mohos y levaduras, UFC/g	5	200	500	2	NTE INEN 1529-10

Donde:

- n = número de muestras para analizar
- m = criterio de aceptación
- M = criterio de rechazo
- C = número de unidades que pueden estar entre m y M

(Continúa)

## **Anexo 5.** Técnica de análisis para determinación del porcentaje de acidez y pH.

### **Materiales:**

- Potenciómetro
- Probeta, 10 ml
- Vaso de precipitación, 25 ml
- Matraz Erlenmeyer de 250 ml
- Bureta graduada de 25 ml
- Gotero

### **Reactivos**

- NaOH 0.01 N
- Fenolftaleína
- Agua destilada
- Solución Buffer

### **Procedimiento**

#### **Determinación del pH**

1. Estandarizar el pH en el potenciómetro con solución buffer.
2. Proceder a determinar el pH de la muestra líquida.
3. Enjuagar el electrodo.

### **Determinación de la acidez**

1. Medir 10ml de la muestra y mezclar con 50 ml de agua destilada.
2. Agregar 5 gotas de fenolftaleína y titular con solución de NaOH 0.1 N
3. Registrar el volumen consumido de la solución.

### **Cálculos:**

Los resultados se expresan en porcentaje de acidez en función del ácido láctico y se calculan empleando la siguiente expresión:

$$\text{Acidez (\%)} = \frac{a \times N \times \text{meq}}{b} \times 100$$

### **Donde:**

**a:** volumen en mL consumido de solución de NaOH 0.1 N.

**N:** normalidad de la solución de NaOH.

**meq:** masa molar expresada en g/mmol. Para el ácido láctico, meq= 0.090 g/mmol

**b:** masa en gramos de la muestra

**Fuente:** UTEQ-FCP- Laboratorio de Bromatología

## **Anexo 6.** Técnica de análisis para determinación de sólidos totales.

### **Instrumental**

- Balanza analítica, sensible al 0.1 mg.
- Probeta de 25 ml.
- Estufa, con regulador de temperatura.
- Desecador, provisto de silicagel u otro deshidratante.
- Crisoles de porcelana
- Pinza

### **Preparación de la muestra**

1. Las muestras para el ensayo deben estar acondicionadas en recipientes herméticos, limpios y secos (vidrio, plástico u otro material inoxidable), completamente llenos para evitar que se formen espacios de aire.
2. La cantidad de muestra extraída de un lote determinado debe ser representativa y no debe exponerse al aire por mucho tiempo.
3. Se homogeniza la muestra invirtiendo varias veces el recipiente que la contiene.

### **Procedimiento**

La determinación debe efectuarse por duplicado.

1. Calentar el crisol de porcelana durante 30 min. en la estufa, en donde va hacer colocada la muestra, dejar enfriar a temperatura ambiente y pesar.
2. Pesarse el crisol vacío y luego con la muestra 25ml.
3. Llevar a baño maría a 130° C por dos horas.

4. Transcurrido este tiempo sacar y dejar enfriar en el desecador por media hora, pesar con precisión.

**Cálculos:**

Para la determinación de Sólidos totales se aplicará la siguiente fórmula:

$$\% H = \frac{W_2 - W_1}{W_0} \times 100 \quad \text{Donde:}$$

$W_0$  = Peso de la Muestra (g)

$W_1$  = Peso del crisol más la muestra después del secado.

$W_2$  = Peso del crisol más la muestra antes del secado

$$\%MS = 100 - HT$$

HT= Humedad Total.

MS= Materia Seca

**Fuente:** UTEQ-FCP- Laboratorio de Bromatología

## **Anexo 7.** Técnica de análisis para determinación de ceniza.

### **Instrumental**

- Balanza analítica, sensible al 0.1 mg.
- Mufla, con regulador de temperatura, ajustada a 600<sup>0</sup> C
- Desecador, con silicagel u otro deshidratante.
- Pinza

### **Procedimiento**

La determinación debe realizarse por duplicado sobre la misma muestra preparada.

1. Pesar la muestra más crisol.
2. Colocar el crisol con su contenido cerca de la puerta de la mufla abierta y mantenerlo allí durante unos pocos minutos, para evitar pérdidas por proyección de material que podrían ocurrir si el crisol se introduce directamente en la mufla.
3. Introducir el crisol en la mufla a 600<sup>0</sup> ± 2<sup>0</sup> C hasta obtener cenizas libres de partículas de carbón (esto se obtiene al cabo de 3 horas).
5. Sacar el crisol con las cenizas, dejar enfriar en el desecador y pesar con aproximación al 0.1 mg.
6. Pesar una vez que haya enfriado.

### **Cálculos**

$$C = \frac{W_2 - W_1}{W_0} \times 100$$

W<sub>0</sub> = Peso de la Muestra (g.)

W<sub>1</sub> = Peso del crisol vacío.

W<sub>2</sub> = Peso del crisol más la muestra calcinada.

**Fuente:** UTEQ-FCP- Laboratorio de Bromatología

## **Anexo 8.** Técnica de análisis para determinación de proteína.

### **Instrumental.**

- Balanza analítica, sensible al 0.1 mg
- Unidad digestora J.P. SELECTA, s.a. (Block 40 plazas-Digest).
- Sorbona o colector/extractor de humos (unidad scrubber y bomba de vacío de circulación de agua)
- Unidad de Destilación FISHER DESTILLING Unit DU 100
- Plancha de calentamiento con agitador magnético
- Micro - Tubos de destilación de 100 ml
- Matraz Erlenmeyer de 250 ml
- Gotero
- Bureta graduada y Accesorios
- Espátula
- Gradilla

### **Reactivos**

- Ácido sulfúrico concentrado 96% (d= 1,84)
- Solución de Hidróxido de Sodio al 40%
- Solución de Ácido Bórico al 2%
- Solución de Ácido Clorhídrico 0.1 N (HCl), debidamente Estandarizada
- Tabletas Catalizadoras
- Indicador Kjeldhal
- Agua destilada

### **Preparación de la muestra**

1. Pesar la muestra de acuerdo a lo requerido.
2. Transferir rápidamente la muestra a un recipiente herméticamente cerrado, hasta el momento de análisis.

3. Se homogeniza la muestra interviniendo varias veces el recipiente que lo contiene.

## **Procedimiento**

### **Digestión:**

1. Pesar aproximadamente 0.3 g. de muestra prepara sobre un papel exento de Nitrógeno y colocarle en el micro-tubo digestor.
2. Añadir al micro-tubo una tableta catalizadora y 5 ml. de ácido sulfúrico concentrado.
3. Colocar los tubos de digestión con las muestras en el block-digest con el colector de humos funcionando.
4. Realizar la digestión a una temperatura de 350 a 400° C y un tiempo que puede variar entre 1 y 2 horas.
5. Al finalizar, el líquido obtenido es de un color verde o azul transparente dependiendo del catalizador utilizado.
6. Dejar enfriar la muestra a temperatura ambiente.
7. Evitar la precipitación agitando de vez en cuando.

### **Destilación:**

En cada micro- tubo adicionar 15 ml. de agua destilada.

1. Colocar el micro-tubo y el matraz de recepción con 50 ml. de ácido Bórico al 2% en el sistema de destilación kjeltec.
2. Encender el sistema y adicionar 30 ml. de Hidróxido de Sodio al 40%, cuidando que exista un flujo normal de agua.

3. Recoger aproximadamente 200 ml. de destilado, retirar del sistema los accesorios y apagar.

**Titulación:**

Del destilado recogido en el matraz colocar tres gotas de indicador, titular con Ácido Clorhídrico 0.1 N utilizando un agitador mecánico y registrar el volumen de ácido consumido.

**Cálculos:**

El contenido de proteínas bruta en los alimentos se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$\%PB = \frac{(V_{HCl} - V_b) * 1.401 * NHCl * F}{g. muestra}$$

**Siendo:**

1.401= Peso atómico del nitrógeno

NHCl= Normalidad de Ácido Clorhídrico 0.1 N

F = Factor de conversión (6.25)

VHCl = Volumen del ácido clorhídrico consumido en la titulación

Vb = Volumen del Blanco (0.3)

**Fuente:** Laboratorio de bromatología UTE-SANTO DOMINGO.

**Anexo 9.** Formato de la evaluación sensorial y preferencia de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional.

Nombre: \_\_\_\_\_ edad: \_\_\_\_\_  
 Fecha: \_\_\_\_\_

Frente a usted se exhiben cuatro muestras de una bebida fermentada. Las cuales debe observar y probar cada una de ellas, para luego indicar el grado de intensidad en que percibe cada atributo organoléptico, de acuerdo a la escala y categoría, marcando con una X.

**Escala:**

1 = Nada    2 = Ligero    3 = Moderado    4 = Mucho

**ESCRIBA EL NÚMERO CORRESPONDIENTE EN LA LÍNEA DEL CÓDIGO DE LA MUESTRA, PARA CADA MUESTRA INDIQUE EL NÚMERO CORRESPONDIENTE DE ACUERDO A LA ESCALA.**

CÓDIGO:					
Atributos		1	2	3	4
<b>Olor</b>	Suero				
	Soya				
	Mucílago				
	yogurt				
<b>Color</b>	Beige				
	Blanco lechoso				
<b>Sabor</b>	Suero				
	Soya				
	Mucílago				
	yogurt				
<b>Gusto</b>	Ácido				
	Dulce				
<b>Textura</b>	Fluidez				

CÓDIGO:					
Atributos		1	2	3	4
<b>Olor</b>	Suero				
	Soya				
	Mucílago				
	yogurt				
<b>Color</b>	Beige				
	Blanco lechoso				
<b>Sabor</b>	Suero				
	Soya				
	Mucílago				
	yogurt				
<b>Gusto</b>	Ácido				
	Dulce				
<b>Textura</b>	Fluidez				

CÓDIGO:					
Atributos		1	2	3	4
<b>Olor</b>	Suero				
	Soya				
	Mucílago				
	yogurt				
<b>Color</b>	Beige				
	Blanco lechoso				
<b>Sabor</b>	Suero				
	Soya				
	Mucílago				
	yogurt				
<b>Gusto</b>	Ácido				
	Dulce				
<b>Textura</b>	Fluidez				

CÓDIGO:					
Atributos		1	2	3	4
<b>Olor</b>	Suero				
	Soya				
	Mucílago				
	yogurt				
<b>Color</b>	Beige				
	Blanco lechoso				
<b>Sabor</b>	Suero				
	Soya				
	Mucílago				
	yogurt				
<b>Gusto</b>	Ácido				
	Dulce				
<b>Textura</b>	Fluidez				

**DE LAS CUATRO MUESTRAS QUE TIENE ANTE USTED, DIGA CUÁL DE ELLAS PREFERE.**

Prefiero la muestra: \_\_\_\_\_

**Anexo 10.** Análisis bromatológico de las muestras de la bebida fermentada inoculada con mucílago de cacao en diferentes niveles en el laboratorio de Química UTE.2019.



SEDE SANTO DOMINGO

## REPORTE DE ANÁLISIS BROMATOLOGICO

SOLICITANTE: SRTA. GEMA MUÑOZ MENDOZA

TIPO DE MUESTRA: BEBIDA FERMENTADA A BASE DE LACTOSUERO Y SOYA INOCULADA CON MUCILAGO DE CACAO

DIRECCIÓN: QUEVEDO

IDENTIFICACIÓN: DESDE LA MUESTRA 1 HASTA 16

TELEFONO: 0982562724

FECHA DE INGRESO: 09/09/2019

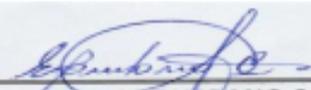
FECHA DE ENTREGA: 9 / 9/2019

CODIGO	TRATAMIENTO	REPETICION	PROTEINA
			%
1	To	R1	1,44
2	To	R2	1,49
3	To	R3	1,43
4	To	R4	1,48
CODIGO	TRATAMIENTO	REPETICION	PROTEINA
			%
9	T2	R1	1,58
10	T2	R2	1,47
11	T2	R3	1,56
12	T2	R4	1,56

CODIGO	TRATAMIENTO	REPETICION	PROTEINA
			%
5	T1	R1	1,53
6	T1	R2	1,55
7	T1	R3	1,52
8	T1	R4	1,55
CODIGO	TRATAMIENTO	REPETICION	PROTEINA
			%
13	T3	R1	1,62
14	T3	R2	1,58
15	T3	R3	1,59
16	T3	R4	1,57

METODO DE ANALISIS

PROTEINA Kjeldhal factor es 6,25

  
 ING. ELSA BURBANO C.  
 JEFE DE LABORATORIOS



**Anexo 11.** Análisis de varianza de los parámetros físico-químicos de la bebida fermentada obtenidos del Infostat.

**pH**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
pH	16	0,97	0,97	1,44

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2,24	3	0,75	146,28	<0,0001
Tratamientos	2,24	3	0,75	146,28	<0,0001
Error	0,06	12	0,01		
Total	2,30	15			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,15008**

Error: 0,0051 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.		
3	4,56	4	0,04	D	
2	4,72	4	0,04	C	
1	5,06	4	0,04		B
0	5,54	4	0,04		A

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

**Acidez**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Acidez	16	1,00	1,00	1,78

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,13	3	0,04	1697,00	<0,0001
Tratamientos	0,13	3	0,04	1697,00	<0,0001
Error	3,0E-04	12	2,5E-05		
Total	0,13	15			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,01050**

Error: 0,0000 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.		
0	0,17	4	2,5E-03	D	
1	0,23	4	2,5E-03	C	
2	0,32	4	2,5E-03		B
3	0,41	4	2,5E-03		A

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

**Humedad**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Humedad	16	0,48	0,35	4,67

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	181,69	3	60,56	3,73	0,0419
Tratamientos	181,69	3	60,56	3,73	0,0419
Error	194,75	12	16,23		
Total	376,44	15			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=8,45724**

Error: 16,2292 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
0	82,00	4	2,01	A
1	83,75	4	2,01	A
2	89,50	4	2,01	A
3	89,50	4	2,01	A

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

### Sólidos totales aj

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Solidos totales aj	16	0,57	0,46	4,26

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,19	3	0,06	5,34	0,0144
Tratamientos	0,19	3	0,06	5,34	0,0144
Error	0,14	12	0,01		
Total	0,33	15			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,22706**

Error: 0,0117 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
0	2,66	4	0,05	A
1	2,63	4	0,05	A
2	2,49	4	0,05	A B
3	2,39	4	0,05	B

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

### Ceniza aj

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Ceniza aj	16	0,56	0,45	3,89

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,09	3	0,03	5,16	0,0160
Tratamientos	0,09	3	0,03	5,16	0,0160
Error	0,07	12	0,01		
Total	0,16	15			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,16210**

Error: 0,0060 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
0	2,10	4	0,04	A
1	2,01	4	0,04	A B
2	1,96	4	0,04	A B
3	1,89	4	0,04	B

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

**Brix**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
<b>Brix</b>	16	0,98	0,98	3,52

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	70,58	3	23,53	207,21	<0,0001
Tratamientos	70,58	3	23,53	207,21	<0,0001
Error	1,36	12	0,11		
Total	71,94	15			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,70739**

Error: 0,1135 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
3	12,20	4	0,17	A
2	11,03	4	0,17	B
1	8,03	4	0,17	C
0	7,08	4	0,17	D

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

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
<b>Proteína</b>	16	0,74	0,68	2,06

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,03	3	0,01	11,63	0,0007
Tratamientos	0,03	3	0,01	11,63	0,0007
Error	0,01	12	1,0E-03		
Total	0,05	15			

**Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,06625**

Error: 0,0010 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
0	1,46	4	0,02	C
1	1,54	4	0,02	B
2	1,54	4	0,02	B
3	1,61	4	0,02	A

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

**Anexo 12.** Prueba no paramétrica de Kruskal- Wallis en los análisis organolépticos: olor, color, sabor, gusto, textura obtenidos del Infostat.

**VARIABLE OLOR**

**Prueba de Kruskal Wallis**

Variable	tratamiento	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
o. soya	0	30	1,53	0,63	1,00	21,06	<0,0001
o. soya	1	30	1,90	0,88	2,00		
o. soya	2	30	1,13	0,35	1,00		
o. soya	3	30	1,00	0,00	1,00		

Variable	tratamiento	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
o. suero	0	30	3,10	0,31	3,00	83,76	<0,0001
o. suero	1	30	2,00	0,45	2,00		
o. suero	2	30	1,53	0,57	1,50		
o. suero	3	30	1,00	0,00	1,00		

Variable	tratamiento	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
o. mucílago	0	30	1,00	0,00	1,00	69,94	<0,0001
o. mucílago	1	30	1,77	0,50	2,00		
o. mucílago	2	30	2,27	0,64	2,00		
o. mucílago	3	30	2,93	0,78	3,00		

Variable	tratamiento	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
o. yogurt	0	30	1,00	0,00	1,00	78,99	<0,0001
o. yogurt	1	30	1,00	0,00	1,00		
o. yogurt	2	30	1,60	0,50	2,00		
o. yogurt	3	30	4,00	0,00	4,00		

**Intervalos de confianza**

*Bilateral*

*Estimación paramétrica*

Variable	Parámetro	Estimación	E.E.	n	LI (95%)	LS (95%)
Olor soya	Media	1,39	0,20	4	0,74	2,04
Olor suero	Media	1,91	0,45	4	0,49	3,33
Olor mocil.	Media	1,99	0,41	4	0,70	3,29
olor.yogurt	Media	1,90	0,71	4	-0,37	4,17

## Variable Color

### Prueba de Kruskal Wallis

Variable	tratamiento	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
C. beige	0	30	3,33	0,48	3,00	7,44	<0,0001
C. beige	1	30	3,00	0,00	3,00		
C. beige	2	30	3,00	0,00	3,00		
C. beige	3	30	3,00	0,00	3,00		

Variable	tratamiento	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
C. blanco lechoso	0	30	1,20	0,41	1,00	2,45	0,0081
C. blanco lechoso	1	30	1,10	0,31	1,00		
C. blanco lechoso	2	30	1,00	0,00	1,00		
C. blanco lechoso	3	30	1,00	0,00	1,00		

### Intervalos de confianza

*Bilateral*

*Estimación paramétrica*

Variable	Parámetro	Estimación	E.E.	n	LI (95%)	LS (95%)
Beige	Media	3,08	0,08	4	2,82	3,35
Blanco lechoso	Media	1,08	0,05	4	0,92	1,23

**Variable Sabor**  
**Prueba de Kruskal Wallis**

Variable	tratamiento	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
S. Soya	0	30	2,97	0,81	3,00	62,65	<0,0001
S. Soya	1	30	1,57	0,57	2,00		
S. Soya	2	30	1,13	0,35	1,00		
S. Soya	3	30	1,10	0,31	1,00		

Variable	tratamiento	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
S. Suero	0	30	3,80	0,41	4,00	71,59	<0,0001
S. Suero	1	30	1,50	0,68	1,00		
S. Suero	2	30	1,00	0,00	1,00		
S. Suero	3	30	1,00	0,00	1,00		

Variable	tratamiento	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
S. Mucílago	0	30	1,00	0,00	1,00	68,40	<0,0001
S. Mucílago	1	30	1,77	0,50	2,00		
S. Mucílago	2	30	2,27	0,64	2,00		
S. Mucílago	3	30	2,67	0,48	3,00		

Variable	tratamiento	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
S. yogurt	0	30	1,00	0,00	1,00	95,81	<0,0001
S. yogurt	1	30	1,00	0,00	1,00		
S. yogurt	2	30	3,23	0,43	3,00		
S. yogurt	3	30	4,00	0,00	4,00		

**Intervalos de confianza**

*Bilateral*  
*Estimación paramétrica*

Variable	Parámetro	Estimación	E.E.	n	LI (95%)	LS (95%)
S. Soya	Media	1,69	0,44	4	0,29	3,09
S. Suero	Media	1,83	0,67	4	-0,30	3,95
S. Mucílago	Media	1,93	0,36	4	0,78	3,07
S. Yogurt	Media	2,31	0,77	4	-0,15	4,76

**Variable Gusto**  
**Prueba de Kruskal Wallis**

Variable	tratamiento	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
G. dulce	0	30	1,97	0,18	2,00	19,14	<0,0001
G. dulce	1	30	1,90	0,31	2,00		
G. dulce	2	30	1,67	0,48	2,00		
G. dulce	3	30	1,40	0,81	1,00		

Variable	tratamiento	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
G. acido	0	30	2,53	0,51	3,00	23,05	<0,0001
G. acido	1	30	2,70	0,75	3,00		
G. acido	2	30	3,03	0,67	3,00		
G. acido	3	30	3,40	0,50	3,00		

**Intervalos de confianza**

*Bilateral*  
*Estimación paramétrica*

Variable	Parámetro	Estimación	E.E.	n	LI (95%)	LS (95%)
Dulce	Media	1,74	0,13	4	1,33	2,14
Ácido	Media	2,92	0,19	4	2,30	3,53

**Variable Textura**  
**Prueba de Kruskal Wallis**

Variable	Tratamiento	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
FLUIDEZ	0	30	3,30	0,47	3,00	7,63	0,0185
FLUIDEZ	1	30	3,30	0,47	3,00		
FLUIDEZ	2	30	3,30	0,67	3,50		
FLUIDEZ	3	30	3,30	0,48	4,00		

**Intervalos de confianza**

*Bilateral*  
*Estimación paramétrica*

Variable	Parámetro	Estimación	E.E.	n	LI (95%)	LS (95%)
Fluidez	Media	3,42	0,09	4	3,14	3,70

**Anexo 13.** Análisis microbiológico de agentes patógenos presentes en la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao en el laboratorio AGROLAB-Sto-Dgo. 2019.



**RESULTADOS: ANALISIS MICROBIOLÓGICO**

Datos del cliente	Referencia
Solicitante: SRTA. GEMA MUÑOZ	Número de muestra: 691
Tipo de muestra: BEBIDA LACTEA (suero, soya, mucilago de cacao)	Fecha ingreso: 09/09/2019
Envase: polietileno	Fecha de impresión: 20/09/2019
Muestreo: Particular	Fecha de entrega: 20/09/2019

**ANALISIS MICROBIOLÓGICO**

PARAMETRO	UNIDAD	RESULTADO	MAXIMO PERMISIBLE*	METODO REFERENCIAL APLICADO
Coliformes Totales	u.f.c /g	.....	10	AOAC 991.14
Escherichia Coli.	u.f.c /g	.....	< 1	AOAC 991.14
Recuento de mohos y levaduras	u.p.c /g	.....	100	AOAC 997.02

\*Bebidas lácteas requisitos. NTEN INEN 2564:2011/2011-10

  
**Atentamente**  
**AGROLAB**  
 Dra. Luz María Millán  
**LABORATORISTA**  
**AGROLAB**

**RESULTADOS: ANALISIS MICROBIOLÓGICO**

Datos del cliente	Referencia
Solicitante: SRTA. GEMA MUÑOZ	Número de muestra: 691
Tipo de muestra: BEBIDA LACTEA (suero, soya, mucilago de cacao)	Fecha ingreso: 30/092019
Envase: polietileno	Fecha de impresión: 30/092019
Muestreo: Particular	Fecha de entrega: 30/092019

**ANALISIS MICROBIOLÓGICO**

PARAMETRO	UNIDAD	RESULTADO	MAXIMO PERMISIBLE*	METODO REFERENCIAL APLICADO
Coliformes Totales	u.f.c /g	8	10	AOAC 991.14
Escherichia Coli.	u.f.c /g	<1	<1	AOAC 991.14
Recuento de mohos y levaduras	u.p.c /g	80	100	AOAC 997.02

\*Bebidas lácteas requisitos. NTEN INEN 2564:2011/2011-10

Atentamente  
  
 Dra. Luz María Martínez  
 LABORATORISTA  
 AGROLAB

**Anexo 14.** Control de pH, acidez, mohos y levaduras para la estimación de vida útil.

<b>TIEMPO (días)</b>	<b>pH</b>	<b>Ln pH</b>	<b>%Ác. Láctico</b>	<b>Ln %Ác. Láctico</b>	<b>Mohos y levaduras UFC</b>	<b>Ln Mohos y levaduras UFC</b>
0	4,55	1,515127233	0,41	-0,891598119	0	0
5	4,54	1,512927012	0,41	-0,891598119	8	2,079441542
10	4,43	1,488399584	0,42	-0,867500568	40	3,688879454
15	4,39	1,479329227	0,44	-0,820980552	60	4,094344562
20	4,20	1,435084525	0,50	-0,693147181	80	4,382026635

**Anexo 15.** Ecuaciones de la cinética de primer orden para el cálculo de tiempo de estimación de vida útil.

<b>Ecuación de primer orden n=1</b>		<b>r</b>	<b>K(1/días)</b>	<b>V. útil</b>
<b>Ln A= Ln A<sub>0</sub> + kt</b>				
<b>pH</b>	Ln(pH)=1,5249 – 0,0039	0,8898	-0,0039	24
<b>Acidez</b>	Ln(acidez)= -0,9265+0,0094	0,7873	0,0094	25
<b>Mohos y levaduras</b>	Ln(mohos y lev)= 0,6931 + 0,2156	0,8726	0,2156	17

**Anexo 16.** Análisis microbiológico de las bacterias ácido lácticas y coliformes totales en el mucílago de cacao fermentado en el laboratorio AGROLAB-Sto-Dgo. 2019.



**RESULTADOS: ANALISIS MICROBIOLÓGICO**

Datos del cliente		Referencia	
Solicitante: SRTA. GEMA MUÑOZ		Número de muestra: 689-690	
Tipo de muestra: MUCILAGO DE CACAO		Fecha ingreso: 09/09/2019	
Envase: polietileno		Fecha de impresión: 20/09/2019	
Muestreo: Particular		Fecha de entrega: 20/09/2019	

**COLIFORMES TOTALES**

CODIGO LABORATORIO	UNIDAD	COLIFORMES TOTALES	METODO REFERENCIAL APLICADO
689	u.f.c./g	Ausencia	AOAC 990.12

**BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS HOMOFERMENTATIVAS Y HETEROFERMENTATIVAS.**

CODIGO LABORATORIO	UNIDAD	BACTERIAS ACIDO LACTICAS	METODO REFERENCIAL APLICADO
690	u.f.c./g	$2 \times 10^5$	AOAC 990.12

Atentamente  
  
 Dra. Dra. María Maemur  
 LABORATORISTA  
 AGROLAB

**Anexo 17.** Análisis de viabilidad microbiológica de las BAL en los tratamientos de la bebida fermentada inoculada con mucílago de cacao en el laboratorio AGROLAB-Sto.-Dgo. 2019.



**RESULTADOS: ANALISIS MICROBIOLÓGICO**

Datos del cliente	Referencia
Solicitante: SRTA. GEMA MUÑOZ	Número de muestra: 686-688
Tipo de muestra: BEBIDA LACTEA (suero, soya, mucilago de cacao)	Fecha ingreso: 09/09/2019
Envase: polietileno	Fecha de impresión: 20/09/2019
Muestreo: Particular	Fecha de entrega: 20/09/2019

**HOMOFERMETATIVAS Y HETEROFERMENTATIVAS**

CODIGO LABORATORIO	IDENTIFICACION DE LA MUESTRA	UNIDAD	RESULTADO	METODO REFERENCIAL APLICADO
686	MUESTRA T <sub>0</sub>	u.f.c /g	5x10 <sup>4</sup>	Petrifilm-BAL
687	MUESTRA T <sub>1</sub>	u.f.c /g	1x 10 <sup>6</sup>	Petrifilm-BAL
688	MUESTRA T <sub>2</sub>	u.f.c /g	1,5x10 <sup>7</sup>	Petrifilm-BAL
688	MUESTRA T <sub>3</sub>	u.f.c /g	2,5x10 <sup>7</sup>	Petrifilm-BAL

Dra. María Muñoz
   
**LABORATORISTA**
  
**AGROLAB**

### RESULTADOS: ANALISIS MICROBIOLÓGICO

Datos del cliente	Referencia
Solicitante: SRTA. GEMA MUÑOZ	Número de muestra: 686-688
Tipo de muestra: BEBIDA LACTEA (suero, soya, mucilago de cacao)	Fecha ingreso: 30/092019
Envase: polietileno	Fecha de impresión: 7/10/2019
Muestreo: Particular	Fecha de entrega: 7/10/2019

### HOMOFERMETATIVAS Y HETEROFERMENTATIVAS

CODIGO LABORATORIO	IDENTIFICACION DE LA MUESTRA	UNIDAD	RESULTADO	METODO REFERENCIAL APLICADO
686	MUESTRA T <sub>0</sub>	u.f.c /g	7,9x10 <sup>6</sup>	Petrifilm-BAL
687	MUESTRA T <sub>1</sub>	u.f.c /g	2,8x10 <sup>6</sup>	Petrifilm-BAL
688	MUESTRA T <sub>2</sub>	u.f.c /g	3,7x10 <sup>7</sup>	Petrifilm-BAL
688	MUESTRA T <sub>3</sub>	u.f.c /g	4x10 <sup>7</sup>	Petrifilm-BAL


  
Atestamiento  
**DR. Lic. María Martínez**  
 LABORATORISTA  
 AGROLAB

**Anexo 18.** Análisis económico del mejor tratamiento en la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao.

**COSTOS DE PRODUCCION BEBIDA FERMENTADA DE 1000CC.**

	Pre. Litro	cant.litros	Dólares							
<b>suero</b>	<b>0,1</b>	<b>22,2</b>	<b>2,22</b>							
<b>soya</b>	<b>1</b>	<b>7,4</b>	<b>7,4</b>							
<b>mucilago</b>	<b>0</b>	<b>2,4</b>	<b>0</b>							
<b>total</b>		<b>32</b>	<b>9,62</b>							
Gastos en compras			0,00							
Transporte			0,00	<b>SUELDO</b>	<b>IESS</b>	<b>VACACIONES</b>	<b>13 SUELDO</b>	<b>B. EDUCACION</b>	<b>COSTO MENSUAL</b>	
Recepción			0,00	394	44,72	16,4166667	32,8333333	16,6666667	504,6356667	
Mano de Obra			3,15						3,153972917	costo hora
Gastos Generales de Fabricación			<b>16,40</b>			<b>LUZ</b>	<b>AGUA</b>			
Mano de Obra			3,15			10,00	8,00	MENSUAL		
Empaques			9,60			0,33	0,27	DIA		
Etiqueta			1,50			0,01	0,01	HORA		
Insumos			2,00			0,08	0,07	HORAS DE PROCESO		
Servicios Básicos			0,15							
<b>DEPRECIACION</b>			<b>0,45</b>			<b>DEPRECIACION</b>				
Edificios			0,01		50	5	0,41666667	0,01388889		
Materiales y Equipo			0,42		1000	100	8,33333333	0,41666667		
Muebles y Enseres			0,02		25	5	0,41666667	0,02083333		
<b>COSTO DE PRODUCCIÓN</b>			<b>26,48</b>		14000	2800	233,333333	11,6666667		
<b>VENTAS</b>										
<b>Gasto en ventas</b>			<b>5,00</b>							
Transporte en ventas			5,00							
Publicidad			0,00							
Comisiones			0,00							
Arriendos			0,00							
<b>COSTOPRO. ELAB Y VEND.</b>			<b>31,48</b>							

<b>UNIDADES PRODUCIDAS</b>	<b>32,00</b>
Costo Unitario de Produ y Ventas	0,98
<b>Margen de utilidad Bruta</b>	<b>6,30</b>
Precio de Venta a Distrib	0,98

COSTO LITRO PRODUCIDO **0,83** CENTAVOS DE DÓLAR

**Anexo 19.** Proceso de recolección y extracción del mucílago de cacao.

Selección y lavado



Extracción de la placenta de cacao



Reposo de semillas



Extracción del mucílago



Fermentación del mucílago



**Anexo 20.** Proceso de extracción de la soya.

Selección de granos



Remojo de granos



Enjuague del grano



Descascarillado



Pre-cocción



Extracción del jugo de soya



**Anexo 19.** Proceso de pasteurización del suero.



**Anexo 20.** Proceso de elaboración de la bebida fermentada a base de lactosuero y soya inoculada con mucílago de cacao nacional.

Pasteurización de la soya y suero



Inoculación



Incubación o fermentación



Esterilización de botellas y envasado



## Anexo 21. Análisis físico-químicos de la bebida fermentada

Preparación de muestras



Ceniza



pH y °Brix



Acidez



Sólidos totales



## Anexo 22. Prueba organoléptica y preferencia de la bebida fermentadas por los panelista.



Anexo 23. Etiqueta del producto.



**SUMMER**

Información Nutricional	
Tamaño de la porción: 150ml	
Porciones por envase: 2	
Cantidad por porción	
<b>Energía (calorías) / 838kJ (200kcal)</b>	
Grasa total	0 g
Grasa saturada	0 g
Grasa monoinsaturada	0 g
Grasa poliinsaturada	0 g
Grasas trans	0 g
Colesterol	0 mg
Fibra	30 g
Sodio	15 mg
Carbohidratos totales	1 g
Azúcares	1 g
Proteína	0 g
Vitamina B3 30%	Vitamina B12 40%
Vitamina B6 30%	
Los porcentajes de valores diarios están basados en una dieta en una dieta de 8380kJ (2000 kcal).	

**INGREDIENTES:** suero, soya, mucílago de cacao nacional, cmc (Carboxil Metil Celulosa).

**CONDICIONES DE CONSERVACION:** Mantener en refrigeración. Una vez abierto el producto consumirlo en el menor tiempo posible.



Este producto al ser 100% natural **NO** requiere del sistema gráfico de acuerdo al artículo 14 del Registro Oficial #134.

**ELABORADO POR:** Gema, Muñoz.

Km. 4 Vía Quevedo  
telf.:0982562724

Santo Domingo – Ecuador –  
www.geinna.com

**NOTIFICACIÓN SANITARIA:**  
#12816-ALN-1216

Norma INEN 2608

Síguenos en nuestras redes  
[www.industriageinna.com](http://www.industriageinna.com)



F.E: 15/nov/19  
F.V: 02/dic/19  
PVP: \$0.98



7 861077 501905