



**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA AGRÍCOLA MENCIÓN AGROINDUSTRIAL**

**BEBIDA PROBIÓTICA A BASE DE ALMENDRAS
ENRIQUECIDA CON EXTRACTO DE ZANAHORIA
(*Daucus carota*) Y ESPINACA (*Spinacia oleracea*) COMO
FUENTE DE VITAMINA A**

TRABAJO EXPERIMENTAL

Trabajo de titulación presentado como requisito para la
obtención del título de
INGENIERA AGRÍCOLA MENCIÓN AGROINDUSTRIAL

**AUTOR
BENAVIDES ARCALLE JULEXI MARIANELA**

**TUTOR
ING. NUÑEZ RODRÍGUEZ PABLO, MSC.**

MILAGRO – ECUADOR

2021



UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA AGRÍCOLA MENCIÓN AGROINDUSTRIAL

APROBACIÓN DEL TUTOR

Yo, ING. NÚÑEZ RODRÌGUEZ PABLO, MSc, docente de la Universidad Agraria del Ecuador, en mi calidad de Tutor, certifico que el presente trabajo de titulación: “BEBIDA PROBIÓTICA A BASE DE ALMENDRAS ENRIQUECIDA CON EXTRACTO DE ZANAHORIA (*Daucus carota*) Y ESPINACA (*Spinacia oleracea*) COMO FUENTE DE VITAMINA A”, realizado por la estudiante BENAVIDES ARCALLES JULEXI MARIANELA; con cédula de identidad N°0940348436 de la carrera INGENIERÍA AGRÍCOLA MENCIÓN AGROINDUSTRIAL, Unidad Académica Milagro, ha sido orientado y revisado durante su ejecución; y cumple con los requisitos técnicos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador; por lo tanto se aprueba la presentación del mismo.

Atentamente,

Firma del Tutor

Milagro, 29 de Agosto del 2021



UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA AGRÍCOLA MENCIÓN AGROINDUSTRIAL

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

Los abajo firmantes, docentes designados por el H. Consejo Directivo como miembros del Tribunal de Sustentación, aprobamos la defensa del trabajo de titulación: “BEBIDA PROBIÓTICA A BASE DE ALMENDRAS ENRIQUECIDA CON EXTRACTO DE ZANAHORIA (*Daucus carota*) Y ESPINACA (*Spinacia oleracea*) COMO FUENTE DE VITAMINA A”, realizado por la estudiante BENAVIDES ARCALLE JULEXI MARIANELA, el mismo que cumple con los requisitos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador.

Atentamente,

PhD, Gustavo Martínez Valenzuela
PRESIDENTE

Ing. Jorge Villavicencio Yanos

EXAMINADOR PRINCIPAL

Ing. Pablo Nuñez Rodriguez

EXAMINADOR SUPLENTE

Milagro, 26 de Octubre del 2021

Dedicatoria

Dedico este triunfo académico a Dios, todo poderoso por permitirme avanzar y finalizar una carrera superior y al mismo tiempo por hacer de mí una profesional con las aptitudes psicológicas y personales las cuales gracias a profesores los mismos que han servido como pilares fundamentales en el enriquecimiento académico útiles e indispensables para la formación de un profesional en la sociedad.

Agradecimiento

Agradezco a DIOS, y a mis Padres LUIS VALDEZ MERINO Y MARIANELA ARCALLE PACHECO por su apoyo moral y económico, he impulsarme diariamente con sus consejos y ejemplos de valores inculcándome el respeto y la perseverancia en cada objetivo propuesto, a mi querida hermana NALLELY quien me alentó diariamente a continuar en mis estudios recordándome el esfuerzo diario que como familia hemos logrado día a día y así no ser una carga para sociedad peor aún para la familia y así lograr los objetivos propuestos que es ser un profesional de la república trayendo así beneficios morales y económicos para el hogar.

Autorización de Autoría Intelectual

Yo BENAVIDES ARCALLES JULEXI MARIANELA, en calidad de autor(a) del proyecto realizado, sobre “BEBIDA PROBIÓTICA A BASE DE ALMENDRAS ENRIQUECIDA CON EXTRACTO DE ZANAHORIA (*Daucus carota*) Y ESPINACA (*Spinacia oleracea*) COMO FUENTE DE VITAMINA A” para optar el título de INGENIERA AGRÍCOLA MENCIÓN AGROINDUSTRIAL, por la presente autorizo a la UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR, hacer uso de todos los contenidos que me pertenecen o parte de los que contienen esta obra, con fines estrictamente académicos o de investigación.

Los derechos que como autor me correspondan, con excepción de la presente autorización, seguirán vigentes a mi favor, de conformidad con lo establecido en los artículos 5, 6, 8; 19 y demás pertinentes de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

Milagro, 26 de agosto del 2021

Benavides Arcalles Julexi Marianela

C.I. 094034843-6

Índice general

APROBACIÓN DEL TUTOR	2
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN	3
Dedicatoria.....	4
Agradecimiento	5
Autorización de Autoría Intelectual	6
Índice general	7
Índice de tablas	10
Índice de figuras.....	11
Resumen	12
Abstract.....	13
1. Introducción.....	14
1.1 Antecedentes del problema.....	14
1.2 Planteamiento y formulación del problema	15
1.2.1 Planteamiento del problema	15
1.2.2 Formulación del problema	15
1.3 Justificación de la investigación	16
1.4 Delimitación de la investigación	17
1.5 Objetivo general	17
1.6 Objetivos específicos.....	17
2. Marco teórico.....	19
2.1 Estado del arte.....	19
2.2 Bases teóricas	21
2.2.1 Almendra.....	21
2.2.1.1 Características	21

2.2.1.2 Valor nutricional.....	22
2.2.2 Zanahoria.....	24
2.2.2.1 Características.....	24
2.2.2.2 Valor nutricional.....	25
2.2.3 Espinaca.....	25
2.2.3.1 Características.....	25
2.2.3.2 Valor nutricional.....	26
2.2.4 Fermentación.....	27
2.2.4.1 Tipos de fermentación.....	27
2.2.4.2 Leche Fermentada.....	28
2.2.4.3 Tipos de leche fermentada.....	29
2.2.5 Tipos de Kéfir.....	30
2.2.5.1 Kéfir de leche.....	30
2.2.5.2 Kéfir de agua.....	31
2.3 Marco legal.....	34
3. Materiales y métodos.....	37
3.1 Enfoque de la investigación.....	37
3.1.1 Tipo de investigación.....	37
3.1.2 Diseño de investigación.....	37
3.2.1 Variables.....	37
3.2.1.1. Variable independiente.....	37
3.2.1.2. Variable dependiente.....	37
3.2.2 Tratamientos.....	37
3.2.3 Diseño experimental.....	38
3.2.4 Recolección de datos.....	38

3.2.4.1. Recursos.....	39
3.2.4.2. Métodos y técnicas	40
3.2.5 Análisis estadístico.....	45
4. Resultados.....	46
4.1 Evaluación del grado de aceptabilidad del tratamiento de mejor aceptación, a través de una escala hedónica.....	46
4.2 Análisis de vitamina A y actividad microbiana de microorganismos presentes en la zanahoria y del tratamiento mejor evaluado sensorialmente.	48
4.3 Tiempo de vida útil para el tratamiento de mayor aceptación sensorial basado en criterios microbiológicos.....	48
5. Discusión	50
6. Conclusiones.....	53
7. Recomendaciones.....	54
8. Bibliografía.....	55
9. Anexos	62
9.1 Anexo 1. Boleta para la prueba sensorial.....	62
9.2 Anexo 2. Análisis estadísticos	68
9.3 Anexo 3. Análisis de vitamina A y contenido de bacterias Probióticas..	77
9.4 Anexo 4. Análisis de Vida Útil.	78

Índice de tablas

Tabla 1. Tiempo de fermentación.....	38
Tabla 2. Combinaciones de espinaca y zanahoria.....	38
Tabla 3. Tratamientos a evaluarse.....	38
Tabla 4. Modelo de Análisis de varianza para las variables cualitativas a evaluarse.....	45
Tabla 5. Resultados del análisis sensorial	47
Tabla 6. Análisis de Vitamina A y Actividad microbiana.....	48
Tabla 7. Tiempo de vida Útil.....	49

Índice de figuras

Tabla 1. Tiempo de fermentación.....	38
Tabla 2. Combinaciones de espinaca y zanahoria.....	38
Tabla 3. Tratamientos a evaluarse.....	38
Tabla 4. Modelo de Análisis de varianza para las variables cualitativas a evaluarse.....	45
Tabla 5. Resultados del análisis sensorial	47
Tabla 6. Análisis de Vitamina A y Actividad microbiana.....	48
Tabla 7. Tiempo de vida Útil.....	49

Resumen

Los vegetales, en general, contienen nutrientes beneficiosos como minerales, vitaminas, fibra dietética y antioxidantes, lo que los hace sustratos ideales para los cultivos probióticos. El objetivo de la presente investigación fue evaluar la influencia de los extractos de zanahoria y espinaca en una bebida probiótica de kéfir a base de almendras, para lo cual se establecieron dos factores de estudio: el primero correspondió a tres tiempos de fermentación; y el segundo, tres mezclas de espinaca con zanahoria. En el análisis sensorial efectuado a la bebida probiótica a base de almendras enriquecida con extracto zanahoria y espinaca se evidenció que el tratamiento T3 (elaborado con 40% de espinaca y 60% de zanahoria y con un período de fermentación con kéfir de 2 días) fue el mejor evaluado en cada uno de sus atributos. El análisis de vitamina A dio un resultado de 43,67 UI retinol/Kg, dicho valor resalta un importante aporte de los ingredientes hacia el producto final, cabe destacar que el método de pasteurización utilizado fue de 65 °C por 5 minutos. El conteo de bacterias probióticas en el producto final fue de $7,92 \times 10^6$ UFC/g, estas bebidas exceden la cantidad mínima de bacterias probióticas requeridas en la Norma INEN 2395-2011 (1×10^4 UFC/g), lo cual se puede afirmar que se trata de una bebida probiótica. Los resultados evidenciaron ausencia de patógenos (<10 UFC/g) para cada uno de los parámetros analizados, se establece el tiempo de vida útil del producto de al menos 30 días.

Palabras claves: bacterias probióticas, fermentación, kéfir, retinol, vitaminas.

Abstract

Vegetables, in general, contain beneficial nutrients such as minerals, vitamins, dietary fiber, and antioxidants, making them ideal substrates for probiotic crops. The objective of the present investigation was to evaluate the influence of carrot and spinach extracts in an almond-based kefir probiotic drink, for which two study factors were established: the first corresponded to three fermentation times; and the second, three spinach and carrot mixes. In the sensory analysis carried out on the probiotic drink based on almonds enriched with carrot and spinach extract, it was evidenced that treatment T3 (made with 40% spinach and 60% carrot and with a fermentation period with kefir of 2 days) was the best evaluated in each of its attributes. The vitamin A analysis gave a result of 43.67 IU retinol / Kg, this value highlights an important contribution of the ingredients towards the final product, it should be noted that the pasteurization method used was 65 ° C for 5 minutes. The probiotic bacteria count in the final product was 7.92 x 10⁶ CFU / g, these drinks exceed the minimum amount of probiotic bacteria required in the INEN 2395-2011 Standard (1 X 10⁴ CFU / g), which can be claim that it is a probiotic drink. The results showed the absence of pathogens (<10 CFU / g) for each of the parameters analyzed, the shelf life of the product of at least 30 days was established.

Keywords: probiotic bacteria, fermentation, kefir, retinol, vitamins.

1. Introducción

1.1 Antecedentes del problema

Los probióticos son microorganismos vivos que pueden incluirse en la preparación de una amplia gama de productos incluyendo: alimentos, medicamentos, y suplementos dietéticos. Las especies de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* son las más comúnmente utilizadas como probióticos, pero la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y algunas especies de *E. coli* y *Bacillus* también son incluidos en este grupo (Vacharaksa, Finlay, Arumugan y col., 2011). Ouwehand (2007) reporta 379 lanzamientos de productos probióticos en todo el mundo en el año 2005. Hasta hace unos años el yogur y las leches fermentadas fueron los alimentos probióticos más difundidos comercialmente, sin embargo, nuevas alternativas de derivados lácteos especiales se están investigando y algunos introduciéndose en el mercado a fin de ofrecer una más amplia variedad de sabores y texturas, así como mejores matrices para estos microorganismos. Por otro lado, ciertas tendencias de comportamiento y exigencias por razones de salud de los consumidores están marcando pautas en la utilización de otros vehículos a parte de la matriz láctea para estos microorganismos, alentando a los investigadores y la industria a explorar nuevas matrices alimentarias. Los acontecimientos que marcan esta dirección son, por ejemplo: el crecimiento de un sector de consumidores vegetarianos, consideraciones de salud como evitar el consumo de alimentos con colesterol, consumidores intolerantes a la lactosa o alérgicos a proteínas lácteas y razones económicas por las que en los países en desarrollo se quiere incentivar el empleo de materias primas alternativas (Heenan , Yoon y col., 2006).

1.2 Planteamiento y formulación del problema

1.2.1 Planteamiento del problema

Es un hecho bien conocido que un pobre estado nutricional conlleva un mayor riesgo de contraer infecciones; sin embargo, el conocimiento del papel que juegan los nutrientes en los mecanismos inmunológicos de la defensa es mucho más reciente. Para que ésta se lleve a cabo con normalidad, se requiere un nivel adecuado de nutrientes en el organismo y una buena disponibilidad de los mismos. No obstante, hay que tener en cuenta que los nutrientes no sólo influyen sobre los mecanismos encargados de defender al organismo de patógenos infecciosos, sino que otras funciones en las que está implicado el sistema inmunitario pueden alterarse por desequilibrios en los niveles de nutrientes o causas relacionadas con la nutrición (Nova y col., 2004).

Cuando el sistema inmune está menos activo que lo normal decimos que el paciente tiene una baja en sus defensas, lo cual lo torna más susceptible a contraer infecciones o, ataques de virus o bacterias. Es por eso que resulta fundamental el buen estado del sistema inmunológico para prevenir y combatir diversas enfermedades (Infobae,2015).

La aplicación de cultivos probióticos en medios no lácteos representa un gran desafío, ya que la viabilidad de éstos depende de diversos factores que interactúan tales como: pH, producción de peróxido de hidrógeno, concentración de azúcares (estrés osmótico), actividad de agua, metabolitos, temperatura de almacenamiento, niveles de oxígeno y presencia de microorganismos competidores e inhibidores (Donkor *et al*, 2004).

1.2.2 Formulación del problema

¿La inclusión de extractos de zanahoria y espinaca aportarán con vitaminas en una bebida probiótica de kéfir a base de almendras?

1.3 Justificación de la investigación

Los vegetales, en general, contienen nutrientes beneficiosos como minerales, vitaminas, fibra dietética y antioxidantes, lo que los hace sustratos ideales para los cultivos probióticos, mientras que carece de los alérgenos lácteos que pueden impedir el consumo en ciertos segmentos de la población. Se han estudiado como medios de crecimiento o soportes grupos de alimentos que son parte de la dieta normal del día a día como son: las frutas (Lavermicocca, 2006), hortalizas (Yoon, y col., 2006), legumbres (Heenan y col., 2004) y productos de cereales (Helland y col., 2004).

Aunque mal llamada leche, la bebida de almendras es un alimento bajo en calorías y con gran cantidad de nutrientes, se obtiene a partir de la molienda de este fruto seco mezclada con agua, es un alimento energético recomendable para personas que llevan a cabo una alta actividad física, así como para intolerantes a la lactosa y celíacos. Asimismo, el contenido en vitaminas E y B de la bebida de almendras supone un antioxidante que retrasa el envejecimiento celular, protegen el sistema cardiovascular y refuerzan el sistema inmune (Vanguardia, 2019).

El kéfir por su parte es una leche fermentada rica en bacterias y levaduras probióticas que mejoran la flora intestinal, auxilian en la inmunidad y mejoran el tránsito intestinal, ayudando a mantener la salud general del organismo (Zanin, 2020).

La presente investigación procura elaborar una bebida con fines funcionales, por ello busca aprovechar alimentos naturales con propiedades nutritivas y funcionales como es el caso de las materias primas empleadas. Además, se

busca a través de la zanahoria y la espinaca aportar gran cantidad de vitamina A en la bebida. Esta es necesaria en diversos procesos biológicos como el desarrollo del sistema inmunitario, la formación y mantenimiento de las células de la piel y las mucosas, el crecimiento y la visión. La vitamina A tiene además muchas propiedades antioxidantes, que protegen a las células del organismo de los radicales libres, causantes del envejecimiento.

1.4 Delimitación de la investigación

- **Espacio:** La presente investigación se realizó en la Provincia del Guayas, Cantón Milagro, Parroquia Milagro, en los laboratorios de la Facultad de Ingeniería Agrícola mención Agroindustrial de la Universidad Agraria del Ecuador.
- **Tiempo:** El trabajo experimental tuvo una duración de seis meses, de Diciembre a Mayo del 2021
- **Población:** Se escogió un panel de 30 jueces no entrenados para la valoración sensorial de las muestras. La bebida funcional elaborada va dirigida a la población general.

1.5 Objetivo general

Evaluar la influencia de los extractos de zanahoria y espinaca en una bebida probiótica de kéfir a base de almendras

1.6 Objetivos específicos

Determinar el tratamiento de mayor aceptación sensorial con un panel de 30 jueces no entrenados (olor, sabor, color y textura)

Evaluar el aporte de vitamina A de la zanahoria y espinaca al tratamiento de mayor aceptación

Establecer la actividad microbiana de microorganismos eficientes en la bebida mejor evaluada sensorialmente

Estimar el tiempo de vida útil de la bebida de mayor aceptación en el análisis organoléptico.

1.7 Hipótesis

Al menos uno de los tratamientos con extractos de zanahoria y espinaca aportará vitamina A en una bebida probiótica con Kéfir a base de almendras y contará con características organolépticas aceptables para el consumidor.

2. Marco teórico

2.1 Estado del arte

Rodas (2019) evaluó el efecto del porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación en la elaboración de una bebida funcional. El estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto del porcentaje de gránulos de kéfir (5, 10 y 15 %) y temperatura de incubación (20, 25 y 30 °C) en las características fisicoquímicas, microbiológicas y organolépticas de una bebida funcional. Los análisis realizados fueron: porcentaje de alcohol, pH, composición proximal, recuento de coliformes totales, hongos, levaduras y evaluación organoléptica. Respecto a las características fisicoquímicas, en el porcentaje de alcohol los tratamientos presentaron el mismo resultado, es decir, no presentaron diferencia estadísticamente significativa, en el pH se observa que el T1 (20 °C – 5 % Kéfir), obtiene el mayor contenido de pH 6.03 y el T9 (30 °C – 15 % Kéfir) obtiene el menor contenido de pH 4.15, además se observa que a mayor porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación el valor del pH desciende, referente al análisis de composición proximal se analizó la muestra del T3 (20 °C – 15 % Kéfir). En las características microbiológicas se observó ausencia de coliformes totales y hongos, este es un indicador de que la bebida funcional se elaboró en condiciones higiénicas adecuadas.

Ortega (2014) realizó un estudio con el fin de corroborar los resultados de los análisis realizados a las bebidas fermentadas con las normas INEN y otras literaturas con el fin de saber si cumplieron con el parámetro establecido en la norma INEN 2395-2011 para el consumidor final. Una vez realizado los análisis fisicoquímicos a las bebidas se obtuvo como resultado que cuando se utiliza agua el pH es 3.95 y 4.94 cuando se lo realiza en leche, por haber estado fermentados

en distintos medios. Al realizar las pruebas organolépticas, la bebida fermentada en agua resultaría más agradable al consumidor, por tener un olor cítrico, y sabor ligeramente ácido, a diferencia de la bebida fermentada en leche que tiene olor y sabor ácido, además de que esta no sería consumida por personas intolerantes a la lactosa. En el análisis microbiológico la cantidad de bacterias probióticas para la bebida fermentada con kéfir en agua fue de $2,4 \times 10^8$ UFC/g mientras que en leche tiene 2×10^8 UFC/g, desde el punto de vista cuantitativo, estas bebidas exceden la cantidad mínima de bacterias probióticas requeridas en la Norma INEN 2395-2011.

León (2017) investigó el efecto de la concentración de cultivo kéfir al 3%, 4%, 5% y 6%, en las características fisicoquímicas, químico proximal, sensorial y reológicas de la leche fermentada de soya. El producto se obtuvo mediante las siguientes operaciones: inoculación, incubación, agitación, filtración, envasado y almacenamiento, a 1°C por 48 horas de fermentación. Luego se realizó los análisis fisicoquímicos, químicos proximales, reológicas y evaluación sensorial. En cuanto a la metodología de investigación es de tipo de aplicada y nivel experimental, se aplicó el diseño completamente al azar con tres repeticiones. En cuanto a los resultados están de acuerdo a los establecido por el Codex para leches fermentadas CÓDEX STAN 243-2003 y la bibliografía revisada, el tratamiento más aceptado por el público fue el del 4%, con un pH de 4,5 con una acidez de 0,565 una densidad de 1,028 y con 7,13 °Brix por otro lado con un contenido de proteína de 3,12 %, de grasa de 0,4 %, de fibra de 0,04 %, ceniza de 0,07 y carbohidratos de 7,82 %, con un Índice Reológico (n) de 0,2515. Dando como resultado óptimo el tratamiento inoculado con el 4% de cultivo kéfir. Se

concluye que la leche de soya es un buen sustrato para ser fermentado con cultivo kéfir.

Chicaiza (2018) obtuvo una bebida fermentada a base de manzana Delicia Dorada (*Malus Domestica*) con la utilización del cultivo Kefir (*Kluyveromyces Marxianus*) con el fin de aprovechar el uso de la manzana ecuatoriana y darle un enfoque diferente a esta fruta, por consecuencia se realizó 3 experimentaciones para definir el procedimiento más adecuado para la obtención de la sidra. Como resultado de los exámenes de laboratorio basados en los requisitos de la norma INEN 2802 – 374 se puede indicar que todos los parámetros cumplieron con los niveles establecidos, pues no rebasaron los rangos; por ejemplo, dentro de los indicadores Físico-Químicos se delimitó 5.5°GL y al igual se fijaron niveles casi nulos de metanol, cenizas y ácido málico que no afectan al producto; mientras que los resultados de las características físicas se identificaron como innatos y normales. Mediante la degustación se determinó a la sidra como una bebida de graduación alcohólica ligeramente suave de aromas y sensaciones agradables con persistencia de duración corta obteniendo una aceptabilidad del 100% debido a las 2 únicas opciones escogidas por los degustadores fueron, Bueno (57%) y Muy bueno (47%).

2.2 Bases teóricas

2.2.1 Almendra

2.2.1.1 Características

La almendra (*Prunus dulcis*) pertenece a la familia *Rosaceae* y tiene una estrecha relación con el melocotón o durazno, la ciruela y el albaricoque o damasco, además de otras drupas o frutos de carozo (Sopib, 2009).

El fruto de *Prunus dulcis*, la almendra, es un alimento básico que se remonta a tiempos históricos, incluyendo los bíblicos. Es un fruto que procede del oeste de Asia. Fue muy difundido por toda la cuenca del mediterráneo por los fenicios y expandido por los romanos. California es el líder mundial en la producción de almendra, en 2002, hubo más de 500 000 acres de almendra, por lo que es el cultivo de árboles más plantada en el estado. Últimamente, el cultivo del almendro ha recibido una atención creciente porque es un cultivo que se puede mecanizar fácilmente, del cual se obtienen producciones significativas con poca dotación de agua y, además, permite compaginar las labores agrícolas con otros trabajos que, en estos momentos de fuerte incremento de la agricultura a tiempo parcial, lo convierten en un cultivo muy interesante también desde este punto de vista (Córdova, 2015).

2.2.1.2 Valor nutricional

Las almendras son uno de los frutos secos más nutritivos del planeta, tienen un sabor delicado y dulzón, y contienen infinidad de propiedades beneficiosas para nuestro organismo. Entre sus bondades destaca que ayudan a fortalecer los huesos, el cabello, la piel y son buenas para el corazón, por ello la Federación española del corazón recomienda su consumo. Son ricas en fibras, proteínas, vitaminas B y E, grasas saludables, hierro, calcio, fósforo (Monreal, 2019).

Durante los últimos años la almendra se ha posicionado como un alimento saludable y versátil en sus diferentes formas de uso y consumo. Son numerosos los estudios que demuestran las propiedades beneficiosas de la almendra (Velasco y Aznar, 2016).

En un estudio realizado por Thomas y Gebhardt (2014) sobre la composición nutricional de almendras, concluyen que una onza (30 g) contiene cantidades

elevadas de seis nutrientes esenciales: proteínas (6 g), fibra (4 g), calcio (75 mg), vitamina E (7,4 mg), riboflavina (0,3 mg) y niacina (1 mg). El contenido de grasa predominante es la insaturada, teniendo 12,44 gramos (92%), y casi el 70% de la grasa que tienen es monoinsaturada (MUFA), siendo el ácido oleico el más importante, y también contiene el 25,8% de grasa poliinsaturada (PUFA), destacando el ácido linoleico (omega 6).

Algunos frutos secos y semillas se encuentran entre las fuentes naturales de vitamina E en el suministro de alimentos de los EE.UU. En su principal función como antioxidante, la vitamina E previene las reacciones de los radicales libres, lo cual es importante para proteger las células del daño oxidativo. La vitamina E se ha asociado con el riesgo de ciertos tipos de cáncer como el colon, la vejiga y la próstata. Estudios recientes se han centrado en los efectos de gammatocoferol, así como alfa-tocoferol. De los cuatro tocoferoles (alfa, beta, gamma y delta), el alfa-tocoferol es el único utilizado para estimar la corriente, los otros tocoferoles se absorben y pueden tener otras funciones, pero no se convierten en alfa-tocoferol en el cuerpo (Dávila, 2015).

Según Pribis y Hale-Shukitt (2014), el consumo regular de frutos secos, el consumo de bayas, o ambos podría posiblemente ser utilizado como una estrategia terapéutica adyuvante en el tratamiento y prevención de varias enfermedades neurodegenerativas y disfunción cerebral relacionada con la edad. Así mismo, las pruebas de los ensayos en humanos, aunque limitado, sugiere posibles efectos positivos, sobre todo entre los pacientes de mayor edad, en función de la memoria, la cognición global, y la depresión.

El consumo de la nuez y la almendra en particular, ha demostrado tener efectos beneficiosos sobre los niveles de glucosa en la sangre en individuos con

Diabetes tipo 2 y prediabetes, con efectos estadísticamente significativos con mejoras en los niveles de glucosa, insulina, sensibilidad a la insulina y LDLcolesterol (Mandalari, 2012).

Comparado con otros frutos secos, las almendras son particularmente ricos en fibra dietética (12%), en su mayoría insolubles, que está presente principalmente

en la piel de la almendra. Tanto natural, presente en almendras crudas y almendras escaldadas con piel, un subproducto de la industria de procesamiento de almendra blanqueada, han sido reconocidos como ingredientes útiles para el control de los procesos oxidativos en productos alimenticios y como un potencial de los prebióticos (Mandalari, 2012).

2.2.2 Zanahoria

2.2.2.1 Características

La zanahoria (*Daucus carota* L.) es una planta herbácea de tallos estriados y pelosos, con hojas recortadas alternas, que no sobresalen de la tierra más de 40 cm. Las flores son blancas, pequeñas, generalmente en umbelas, esto es, agrupadas en tallos radicales en forma de sombrilla. Presenta una raíz fusiforme, jugosa y comestible, de unos 15 – 18 cm de longitud. La zanahoria tiene más vitamina A que cualquier otra planta, gracias al β -caroteno (provitamina A) que el cuerpo humano transforma. Además, presenta en sus tejidos, fosfatos, azúcares, sales alcalinas y un aceite aromático (Reina, 2007).

La zanahoria ha experimentado un importante crecimiento en los últimos años, tanto en superficie, como en producción, ya que se trata de una de las hortalizas más producidas en el mundo (Mancera, 2010).

2.2.2.2 Valor nutricional

Las cualidades nutritivas de la zanahoria son importantes, especialmente por su elevado contenido en β -caroteno (precursor de la vitamina A), pues cada molécula de caroteno que se consume es convertida en dos moléculas de vitamina A. La zanahoria se caracteriza en general por un elevado contenido en agua (89%) y bajo contenido en lípidos (0.5%) y proteínas (0.6%), destacando su alto contenido de vitamina A. Las zanahorias son una buena fuente de β -carotenos, que el organismo convierte en vitamina A. A diferencia de la mayor parte de las verduras, esta es más nutritiva cuando se come cocida. Debido a que cruda tiene paredes celulares firmes, y el organismo sólo puede convertir menos del 25% a vitamina A, al cocerlas estas paredes se rompen permitiendo al organismo convertir más del 50 % a vitamina A (Almeida y Zambrano, 2007). La vitamina A es importante para los ojos y el sistema inmunológico. La deficiencia en vitamina A puede originar ceguera nocturna y problemas de acné. Padecer un estado prolongado de deficiencia de vitamina A puede generar varios trastornos oculares como la xeroftalmia (MINSa, 2001)

2.2.3 Espinaca

2.2.3.1 Características

La espinaca (*Spinacia oleracea*), está compuesta mayormente por agua. La cantidad de grasas e hidratos de carbono son muy bajos, pero es uno de los vegetales que más proteínas contiene. Rica en nutrientes, se usa para tratar y prevenir la ocurrencia de distintos tipos de cáncer (tumores), incluyendo los de la vejiga, próstata, hígado y pulmones (Licata y Jaramillo, 2002)

La espinaca por lo general se cultiva en zonas frías y templadas de la sierra ecuatoriana, donde es muy pronunciado su cultivo, entre los sitios más

representativos tenemos: Carchi, Imbabura, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua, Chimborazo, Bolívar, Azuay, Cañar, Loja (Huaraca, 2010).

2.2.3.2 Valor nutricional

Es un alimento especial para curar la anemia y la arterioesclerosis. Posee suficientes vitaminas, ácido fólico y magnesio para reducir la incidencia de enfermedades cardíacas. Se cree que sus componentes tienen una función inmunizadora y se piensa que ayuda a prevenir la osteoporosis en las mujeres postmenopáusicas (Atehortua y Jaramillo, 2002).

La espinaca (*Spinacia oleracea*) posee compuestos que cumplen múltiples funciones como la reducción del riesgo de padecer degeneración macular que conlleva a una disminución de la visibilidad gracias a que la espinaca contiene luteína y zeaxantina, dos carotenoides implicados en la prevención de esta degeneración. También contiene vitamina C que ayuda a la asimilación del hierro que se encuentra en esta verdura en una cantidad igual a 2.71 mg. por cada 100 g., proporción mayor a la de la carne y es por ello que el zumo de espinaca se recomienda en la anemia ferropénica. Mediante estudios en animales de experimentación se ha constatado la efectividad de las proteínas presentes en la espinaca en casos de hipercolesterolemia al dificultar la absorción de colesterol y ácidos biliares. Es recomendable su consumo para madres embarazadas porque contiene ácido fólico, imprescindible para imposibilitar malformaciones genéticas en el feto. También se aconseja a deportistas y adolescentes en fase de crecimiento. La espinaca (*Spinacia oleracea*) es una verdura, que aporta apenas 22 calorías por 100 gramos y además tiene una composición nutricional muy privilegiada, su contenido de proteínas es 2.86%, mientras que carbohidratos y grasas apenas se encuentran un 0.8% y 0.35%, respectivamente y dado la

cantidad de fibra que es de 2.7%, la convierte en un vegetal ideal para dietas saludables (Pamplona, 2004).

La calidad nutricional de la espinaca (*Spinacia oleracea*) también reside en la riqueza mineral y vitamínica que brinda por cada 100 gramos, por eso se aconseja a deportistas y adolescentes en fase de crecimiento. Entre los minerales y vitaminas más importantes están:

Aporta 672 ug de los 1000 ug. diarios de vitamina A que requiere el organismo.

Con 200 ug. excede las necesidades de ácido fólico diarias de 194 ug.

Contribuye con 28.1 mg. de vitamina C de los 60 mg diarios, requeridos.

De los 350 mg. de magnesio que se necesita aporta 79 mg. diarios.

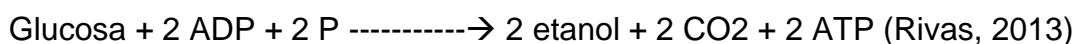
Y 2.71 mg. de hierro de los 10 mg. que se precisa, provienen de la espinaca (Pamplona, 2004).

2.2.4 Fermentación

2.2.4.1 Tipos de fermentación

2.2.4.1.1 Fermentación alcohólica

La fermentación alcohólica es una bioreacción, que permite degradar azúcares es importante debido a que produce el alcohol presente en las bebidas fermentadas (vino, cerveza, etc.) El piruvato se reduce para formar etanol y CO₂, como indica en la ecuación general en ausencia de oxígeno:

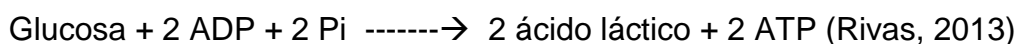


2.2.4.1.2 Fermentación láctica

Fermentación homoláctica

El único producto final de este tipo de fermentación es el ácido láctico. Es de gran importancia en la bajada del pH de los productos donde se encuentran estas bacterias: esta bajada del pH como consecuencia de la liberación de ácido láctico

es suficiente para producir unos cambios químicos en el producto (precipitación de proteínas durante el cuajado de la leche), cambios microbiológico (protección del deterioro microbiano de alimentos como consecuencia de la eliminación de la flora competidora) y organolépticos (los ácidos orgánicos de cadena corta, y entre ellos el ácido láctico tienen características de producción de sabor). Su ecuación global es:



Fermentación heteroláctica

Este proceso lo llevan a cabo bacterias del grupo láctico pertenecientes a los géneros *Leuconostoc* y *Lactobacillus*. Industrialmente el proceso es relevante en la producción de alimentos fermentados (por ejemplo el sauerkraut “col agria”). Otra bacteria productora de este tipo de fermentación es *Lactobacillus acidophilus* que facilita el metabolismo de la leche. La reacción global es:



2.2.4.2 Leche Fermentada

Según la Norma INEN 2395: 2011 “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 isoeléctrica). Estos 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. Comprende todos los productos naturales, incluida la leche fermentada líquida, la leche acidificada y la leche cultivada y al yogur natural, sin aromas ni colorantes”

Las principales especies que constituyen la flora microbiana fermentativa de la leche son:

Lactobacilos. Producen bastante ácido y actúan a temperaturas relativamente elevadas (37 °C)

Estreptococos lácticos que producen menos ácido, pero si son responsables del aroma peculiar.

Levaduras de la lactosa que producen gas carbónico y algo de alcohol (como ocurre en el kéfir) (Rivas, 2013).

2.2.4.3 Tipos de leche fermentada

Yogurt

Se entiende por yogurt o yoghurt al producto de leche coagulada obtenida por fermentación láctica mediante la acción de *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* a partir de leche y/u otros productos procedentes del fraccionamiento de la leche. Químicamente, la acidez proporcionada por el ácido láctico hace que se formen pequeños coágulos de caseína (proteína de la leche), lo que da al yogur su textura especial (Murat , 2014)

Kumis

Es una bebida muy parecida a la leche fermentada con gránulos de kéfir, conteniendo la misma cantidad de ácido láctico pero mayor cantidad de alcohol (como mínimo debe contener 0.5 %). El cultivo iniciador consta de *Lactobacillus delbrueckii* subesp. *bulgaricus* y *Kluyveromyces marxianus* (Sánchez y Méndez, 2016).

Kéfir

El CODEX ALIMENTARIUS define al kéfir como: cultivo preparado a partir de gránulos de kéfir, *Lactobacillus kefir*, especies del género *Leuconostoc*, *Lactococcus* y *Acetobacter* que crecen en una estrecha relación específica. Los gránulos de kéfir constituyen tanto levaduras fermentadoras de lactosa (*Kluyveromyces marxianus*) como levaduras fermentadoras sin lactosa (*Saccharomyces unisporus*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyce*

sexiguus). Es una bebida artesanal de leche de la fermentación láctica como alcohólica debido al accionar de bacterias y levaduras contenidas en sus gránulos (Cuzco , 2017).

2.2.5 Tipos de Kéfir

2.2.5.1 Kéfir de leche

Kéfir es la leche fermentada más antigua que existe. Su origen se sitúa en las montañas del Caúcaso, donde sus pueblos lo vienen consumiendo de forma habitual durante miles de años. Su historia se remonta a la antigüedad, al “ayrag”, bebida que preparaban los campesinos de las montañas del Norte del Caúcaso, dejando remansar la leche de sus animales en odres fabricados a partir de pieles de cabras que nunca se lavaban o limpiaban y que colgaban cerca de la puerta de la casa en el exterior o el interior, según la estación.

Esta bebida fermentada se denominó Kéfir. Aunque no se tiene referencias etimológicas exactas del vocablo Kéfir, se cree que proviene de kief, voz turca que significa “agradable sensación”. Los musulmanes de la zona del Caúcaso creían que el Kéfir (o granos del profeta Mahoma) perdería todas sus virtudes si lo utilizaban gentes de diferentes religiones, de ahí que haya sido un desconocido durante mucho tiempo (Pedraza , 2017).

Este fermento es un excelente alimento probiótico. Con un poder nutritivo mayor al de la leche o yogur, y de más fácil digestión. La acción fermentadora de las bacterias y levaduras del Kéfir; Incrementa el valor biológico de las proteínas de la leche, produce la síntesis de vitaminas del complejo B, siendo una fuente importante de potasio, fósforo, calcio y vitaminas. Restablece y equilibra la flora intestinal. Sintetiza ácido láctico, degradando la lactosa, formándose ácido pirúvico elemento perfectamente digerible (Rivas, 2013).

La composición del kéfir es parecida a la de la leche. Pero no presenta algunos de sus inconvenientes. Las proteínas en la leche fermentada con kéfir tienen mucho más valor biológico y son mucho más asimilables. El kéfir tiene una tensión de cuajo muy baja. La leche kefirada es menos densa que el yogurt. Esto quiere decir que la cuajada se fragmenta muy fácilmente en partículas muy pequeñas. (Mientras que el cuajo del yogurt se mantiene cohesionado, o bien se deshace en pedazos). El pequeño tamaño de las partículas en la cuajada de kéfir facilita su digestión, al presentar ante los agentes de la digestión una mayor superficie sobre la cual actuar. La facilidad para ser digerido ha hecho que muchos investigadores recomienden el kéfir como un alimento particularmente benéfico para los niños las personas convalecientes y o con insuficiencia gástrica (Rivas, 2013).

2.2.5.2 Kéfir de agua

El kéfir de agua o kéfir azucarado es una bebida fermentada consumida de forma casera principalmente en México y Brasil. Es elaborado a base de una solución de sacarosa, generalmente entre 3 y 10%; frutas frescas, principalmente limones; frutas secas como higos y un inóculo de microorganismos denominados "tílicos" o "tibi" (da C.P. Miguel y col., 2011). Los tílicos son gránulos similares a una coliflor, con un diámetro promedio de 5 a 20mm, apariencia transparente y estructura elástica (Waldherr y col., 2010). Producto de la fermentación durante uno o dos días a temperatura ambiente se obtiene una bebida carbonatada ligeramente coloreada, con sabor levemente ácido por la producción de ácido láctico y ácido acético, poca cantidad de azúcar y una ligera cantidad de alcohol (Gulitz y col., 2011), que no llega a superar el 2% (v/v) (Magalhaes y col., 2010). El origen de los gránulos de kéfir de agua es aún incierto. Existen algunas

descripciones de gránulos similares llamados “plantas de cerveza de jengibre” que soldados ingleses importaron de la guerra de Crimea en 1855. Así mismo, se reportaron “granos Tibi” de origen mexicano que son relacionados con el cactus (*Opuntia*) de donde los gránulos eran removidos de las hojas. Son varios los nombres con los que se les conoce a los tíbicos, como: “abejas de California”, “abejas Africanas”, “nueces de cerveza”, “balm of gilead” y “semillas japonesas de cerveza”. Finalmente fueron denominados “granos de kéfir azucarado” con el fin de distinguirlos del kéfir de leche. En general, la microbiota del kéfir de agua está compuesta por una estructura de polisacárido dextrinado insoluble en agua, en donde viven en simbiosis bacterias acidolácticas, bacterias ácido acéticas y levaduras. El polisacárido es un polímero de glucosa con enlaces α 1-6. Se ha identificado al *Lactobacillus hilgardii* como la principal bacteria encargada de la producción del polímero, por medio de la enzima glicosiltransferasa (Waldherr y col., 2010). Los microorganismos presentes en cada gránulo de kéfir de agua dependen de la región, así como del país de origen. Un estudio realizado en Brasil comparó los microorganismos presentes en los gránulos de kéfir provenientes de diferentes regiones del país. Se encontraron diferencias en la composición de la microbiota del gránulo según su lugar de origen; sin embargo, el impacto del clima, medios y métodos de cultivo permanecen desconocidos (Da CP Miguel y col., 2011). Se encontró la presencia de *Lactobacillus* en todas las muestras de kéfir, sin embargo, existían diferencias en las especies ácido acéticas como *Acetobacter lovaniensis* aisladas de los estados de Bahía y Distrito Federal y *Gluconacetobacter liquefaciens* aislada del estado de Bahía y Goiás (Da CP Miguel y col., 2011).

Los microorganismos presentes en la bebida de kéfir de Agua son varios los estudios que se han realizado para determinar cuáles son las bacterias y levaduras presentes en los gránulos de kéfir de agua. Según Magalhaes y col. (2010) al aislar un total de 289 bacterias y 129 levaduras, durante el proceso fermentativo, el 57.65 % fue bacterias acidolácticas, seguidas de levaduras que representaban el 30.86 % y finalmente las bacterias acéticas con el 11.48 %.

Los efectos benéficos que se le atribuyen al kéfir de agua son varios como: tratar padecimientos del aparato digestivo, úlceras, colitis ulcerosa, intolerancia gástrica, colon irritable, divertículos entre otros (Palmetti, 2012); sin embargo, varios de estos atributos no tienen un soporte científico establecido (Magalhaes y col., 2010). Un estudio mostró que al comparar el poder cicatrizante del carbohidrato obtenido del kéfir de agua con el poder cicatrizante del neomycin-clostebol (Combinación de neomicina, un antibiótico de amplio espectro con clostebol, esteroide de uso tópico que aumenta la velocidad de cicatrización), ambos aplicados de forma tópica en heridas inducidas en ratas de laboratorio. El carbohidrato de kéfir fue capaz de inhibir la acción inflamatoria de manera similar que el neomycin-clostebol en heridas; sin embargo, esta droga es conocida por presentar efectos colaterales como problemas hepáticos, disfunciones reproductivas y riesgos neoplásicos. Por lo tanto, se recomienda el uso de una solución a base de gránulos de kéfir frente al neomycin-clostebol (Thomson y Moreira , 2007). Otro de los beneficios que se produce al consumir kéfir se debe a la presencia de *Lactobacillus plantarum*. Según la investigación desarrollada por Wang y col. (2007) en la cual se agregó *L. plantarum* liofilizado a una dieta alta en colesterol, se observó que ratas no manifestaron ninguna variación en cuanto a su peso corporal, comida ingerida y eficiencia de alimentación. Por otro lado, se

presentó una reducción de colesterol sérico, LDL (Lipoproteína de baja densidad) y los niveles de triglicéridos. Adicionalmente se produjo una gran reducción en el colesterol, así como de triglicéridos en el hígado, demostrando de esta manera que el colesterol se redujo y no se redistribuyó en la sangre o en el hígado. Es importante la reducción de LDL como del colesterol total debido a que elevadas cantidades de estos están altamente relacionadas con un incremento en el riesgo de enfermedades coronarias. Su reducción en hombres hipocolesterolémicos puede disminuir la incidencia de enfermedades cardiovasculares. Además, se notó que la concentración de ácido propiónico en las heces de los animales se incrementó significativamente, casi tres veces más con relación al grupo control (que no fue alimentado con *L. plantarum*). Esto indica que una de las vías de síntesis de colesterol se vio afectada, reduciendo de esta forma su concentración (Wang y col., 2007). Otros estudios realizados determinaron que *Lactobacillus* kéfir presente en los gránulos de kéfir tiene la capacidad de antagonizar la invasión y/o adhesión de *Salmonella enteritidis*. La *Salmonella* es uno de los patógenos causantes de una variedad de enfermedades como fiebre entérica, bacteriemia, infecciones focales y enterocolitis. Se encuentra principalmente en pollos y aves de corral; y es una de las mayores fuentes de infección intestinal (Golowczyc y col., 2007).

2.3 Marco legal

Ecuador Plan Nacional toda una vida 2017 – 2021

El Buen Vivir o Sumak Kawsay, es una idea movilizadora que ofrece alternativas a los problemas contemporáneos de la humanidad. El Buen Vivir construye sociedades solidarias, corresponsables y recíprocas que viven en armonía con la naturaleza, a partir de un cambio en las relaciones de poder. El Sumak Kawsay fortalece la cohesión social, los valores comunitarios y la participación activa de individuos y colectividades en las decisiones relevantes para la construcción de su propio destino y felicidad. Se fundamenta en la

equidad con respeto a la diversidad, cuya realización plena no puede exceder los límites de los ecosistemas que la han originado.

Objetivo 5: Impulsar la productividad y competitividad para el crecimiento económico sostenible de manera redistributiva y solidaria.

5.2 Promover la productividad, competitividad y calidad de los productos nacionales, como también la disponibilidad de servicios conexos y otros insumos, para generar valor agregado y procesos de industrialización en los sectores productivos con enfoque a satisfacer la demanda nacional y de exportación.

5.3 Fomentar el desarrollo industrial nacional mejorando los encadenamientos productivos con participación de todos los actores de la economía.

5.4 Incrementar la productividad y generación de valor agregado creando incentivos diferenciados al sector productivo, para satisfacer la demanda interna, y diversificar la oferta exportable de manera estratégica.

5.6 Promover la investigación, la formación, la capacitación, el desarrollo y la transferencia tecnológica, la innovación y el emprendimiento, la protección de la propiedad intelectual, para impulsar el cambio de la matriz productiva mediante la vinculación entre el sector público, productivo y las universidades (Plan Nacional de Desarrollo, 2017, p.80).

Objetivo 6: Desarrollar las capacidades productivas y del entorno para lograr la soberanía alimentaria y el Buen Vivir Rural.

6.1 Fomentar el trabajo y el empleo digno con énfasis en zonas rurales, potenciando las capacidades productivas, combatiendo la precarización y fortaleciendo el apoyo focalizado del Estado e impulsando el emprendimiento.

6.3 Impulsar la producción de alimentos suficientes y saludables, así como la existencia y acceso a mercados y sistemas productivos alternativos, que permitan satisfacer la demanda nacional con respeto a las formas de producción local y con pertinencia cultural (Plan Nacional de Desarrollo, 2017, p.84).

Políticas y lineamientos estratégicos

Diversificar y generar mayor valor agregado en la producción nacional.

Promover la intensidad tecnológica en la producción primaria, de bienes intermedios y finales.

Impulsar la producción y la productividad de forma sostenible y sustentable, fomentar la inclusión y redistribuir los factores y recursos de la producción en el sector agropecuario, acuícola y pesquero.

Fortalecer la economía popular y solidaria y las micro, pequeñas y medianas empresas en la estructura productiva (SENPLADES, 2015, p.359).

Ley orgánica del régimen de la soberanía alimentaria

Título I

Principios generales

Artículo 1. Finalidad. - Esta Ley tiene por objeto establecer los mecanismos mediante los cuales el Estado cumpla con su obligación y objetivo estratégico de garantizar a las personas, comunidades y pueblos la autosuficiencia de alimentos sanos, nutritivos y culturalmente apropiados de forma permanente. El régimen de la soberanía alimentaria se constituye por el conjunto de normas

conexas, destinadas a establecer en forma soberana las políticas públicas agroalimentarias para fomentar la producción suficiente y la adecuada conservación, intercambio, transformación, comercialización y consumo de alimentos sanos, nutritivos, preferentemente provenientes de la pequeña, la micro, pequeña y mediana producción campesina, de las organizaciones económicas populares y de la pesca artesanal así como microempresa y artesanía; respetando y protegiendo la agro biodiversidad, los conocimientos y formas de producción tradicionales y ancestrales, bajo los principios de equidad, solidaridad, inclusión, sustentabilidad social y ambiental. El Estado a través de los niveles de gobierno nacional y subnacionales implementará las políticas públicas referentes al régimen de soberanía alimentaria en función del Sistema Nacional de Competencias establecidas en la Constitución de la República y la Ley (Asamblea Nacional del Ecuador, 2011, p.1).

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2395:2011

LECHES FERMENTADAS. REQUISITOS

Esta norma se aplica a las leches fermentadas naturales: yogur, kéfir, kumis, leche cultivada o acidificada; leches fermentadas con ingredientes y leches fermentadas tratadas térmicamente.

Kéfir. Es una leche fermentada con cultivos ácido lácticos elaborados con granos de kéfir, *Lactobacillus* kéfir, especies de géneros *Leuconostoc*, *Lactococcus* y *Acetobacter* con producción de ácido láctico, etanol y dióxido de carbono. Los granos de kéfir están constituidos por levaduras fermentadoras de lactosa (*Kluyveromyces marxianus*) y levaduras no fermentadoras de lactosa (*Saccharomyces omnisporus*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces exiguus*), *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium sp* y *Streptococcus salivarius subs. Thermophilus*, por cuales deben ser viables y activos durante la vida útil del producto.

3. Materiales y métodos

3.1 Enfoque de la investigación

3.1.1 Tipo de investigación

La investigación fue de tipo experimental, con nivel de conocimiento exploratorio, ya que se evaluó el aporte de distintas concentraciones de extracto de zanahoria y espinaca en una bebida de kéfir a base de almendras.

3.1.2 Diseño de investigación

El diseño de la investigación fue experimental, estuvo bajo un diseño de bloques completos al azar, de esta forma se evaluó las variables cualitativas utilizando un panel de 30 jueces.

3.2 Metodología

3.2.1 Variables

3.2.1.1. Variable independiente

Concentración de extracto de zanahoria y espinaca

3.2.1.2. Variable dependiente

Características sensoriales (color, olor, sabor y textura)

Contenido de vitamina A al tratamiento de mayor aceptación sensorial

Conteo de bacterias probióticas en el tratamiento ganador en la prueba sensorial

Vida útil (aerobios mesófilos, coliformes totales, mohos y levaduras) en el tratamiento con mayor aceptación sensorial

3.2.2 Tratamientos

Para el desarrollo de esta investigación, se ha evaluado dos factores de estudio. Uno de ellos correspondió a tres tiempos de fermentación; y el otro, esta

representada por tres mezclas de espinaca con zanahoria. Estos factores y sus correspondientes niveles se indican a continuación:

Tabla 1. Tiempo de fermentación

FACTOR A: tiempo
a1: 2 días
a2: 4 días
a3: 6 días

Benavides, 2021

Tabla 2. Combinaciones de espinaca y zanahoria

FACTOR B: mezcla espinaca - zanahoria
b1: 20 % - 80 %
b2: 30 % - 70 %
b3: 40 % - 60 %

Benavides, 2021

La combinación de los niveles de estos factores permitio tener un total de nueve tratamientos, definidos en la siguiente forma:

Tabla 3. Tratamientos a evaluarse

No	Factor A	Factor B	Combinaciones
1	a1: 2 días	b1: 20 % espinaca - 80 % zanahoria	a1b1
2	a1: 2 días	b2: 30 % espinaca - 70 % zanahoria	a1b2
3	a1: 2 días	b3: 40 % espinaca - 60 % zanahoria	a1b3
4	a2: 4 días	b1: 20 % espinaca - 80 % zanahoria	a2b1
5	a2: 4 días	b2: 30 % espinaca - 70 % zanahoria	a2b2
6	a2: 4 días	b3: 40 % espinaca - 60 % zanahoria	a2b3
7	a3: 6 días	b1: 20 % espinaca - 80 % zanahoria	a3b1
8	a3: 6 días	b2: 30 % espinaca - 70 % zanahoria	a3b2
9	a3: 6 días	b3: 40 % espinaca - 60 % zanahoria	a3b3

Benavides, 2021

3.2.3 Diseño experimental

Para valorar estadísticamente los resultados de las variables se usó un diseño de bloques completamente al azar, utilizando como fuente 30 jueces no entrenados, quienes realizaron la prueba sensorial en base a un criterio hedónico de 5 puntos.

3.2.4 Recolección de datos

3.2.4.1. Recursos

Recursos bibliográficos

Revistas científicas

Artículos científicos

Libros

Sitios web

Tesis

Recursos institucionales

Universidad Agraria del Ecuador

Laboratorio de Biotecnología

Recursos materiales

Los materiales a utilizar para el trabajo experimental se describen a continuación:

Materia prima e insumos

Zanahoria

Espinaca

Leche de almendras

Kéfir

Sacarosa

Materiales de proceso

- Recipientes de acero inoxidable
- Jarras
- Cuchillo
- Colador
- Cuchillos

- Cucharas

Equipos de proceso

- Balanza digital ohaus, sensibilidad $\pm 0,1$ g.
- Potenciómetro HANNA (1- 14)
- Licuadora industrial
- Refractómetro ATC (0 – 100 ppm)
- Vasos de precipitación (500 ml)
- Termómetros (0 – 100 °C)

3.2.4.2. Métodos y técnicas

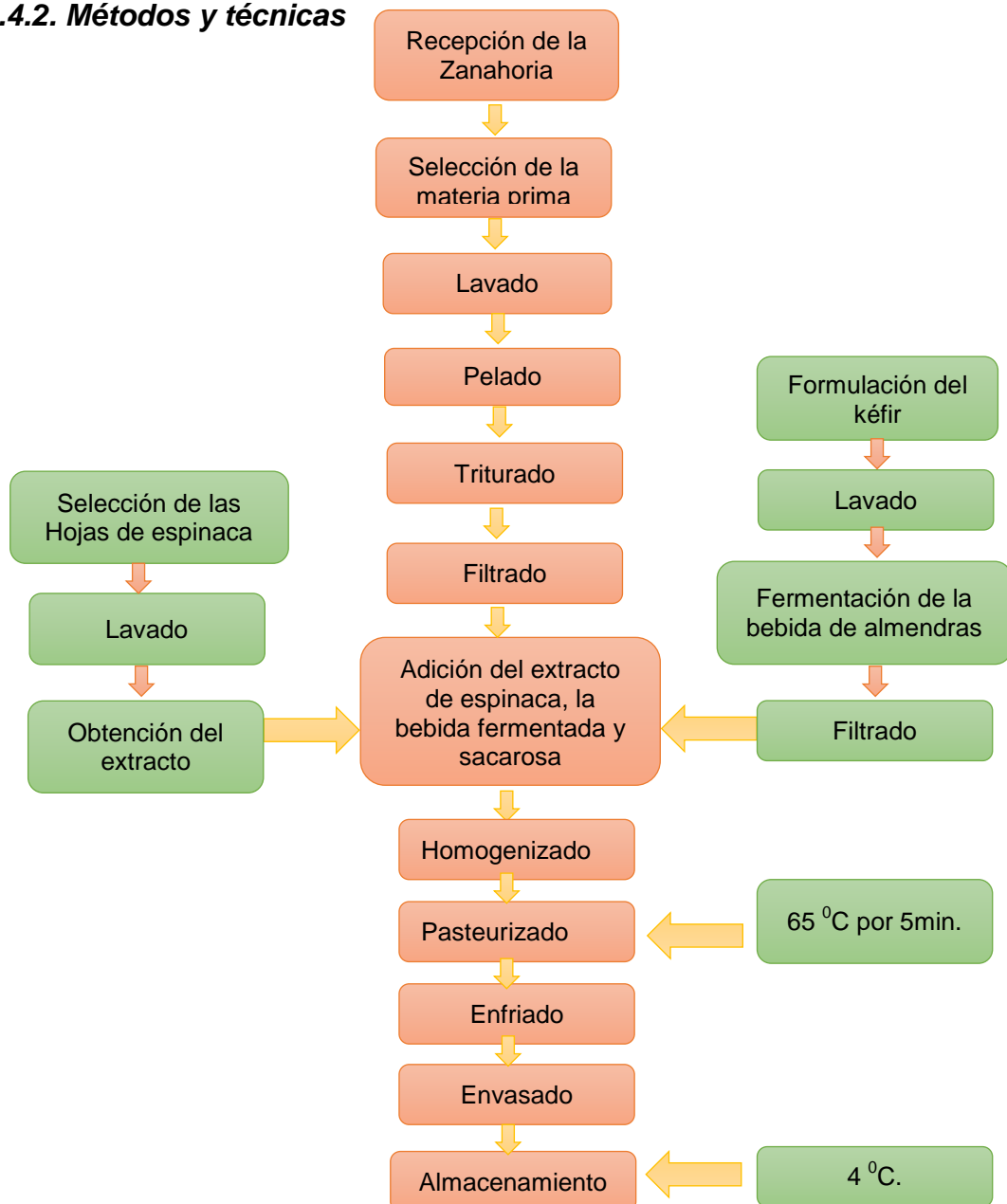


Figura 1. Diagrama de flujo de elaboración de bebida fermentada
Benavides, 2021

Preparación del Kéfir

Lavado del kéfir

El lavado del kéfir se lo realizo enjuagándolo con leche pasteurizada de marca comercial

Fermentación del kéfir

Se colocó el kéfir 1% de la cantidad de leche a fermentar por el tiempo determinado en los tratamientos luego de lo cual se extrajo los gránulos de kéfir mediante un colador casero, y se lo agregó durante el homogenizado de la bebida.

Preparación de la bebida

Recepción de materia prima

Se realizo la recepción de la zanahoria y espinaca.

Selección de materia prima:

Al seleccionar la zanahoria se verificó que no debe estar golpeada o magullada

Se selecciono las hojas de espinaca, desechando las de mal estado, marchitas o con muestra de enfermedad.

Lavado:

El lavado de las zanahorias y hojas de espinaca se realizó con abundante agua, con la finalidad de eliminar cualquier tipo de partículas extrañas, suciedad y restos de tierra que pueda estar adherida a la materia prima.

Pelado:

Operación mediante el cual se retiró de forma manual la cascara de la zanahoria y en la espinaca se retiraron las hojas del tallo.

Triturado

La zanahoria fue colocada en un extractor casero marca Oster con el fin de obtener el extracto

Filtrado

El extracto de la zanahoria posteriormente se filtró para obtener una mejor consistencia.

De igual manera se filtró el extracto de espinaca y la bebida de kéfir.

Adición de del extracto de espinaca, la bebida fermentada y sacarosa:

Se adicionaron los productos una vez ya se han filtrado.

Homogenización

Se removió la mezcla hasta lograr una consistencia homogénea de los ingredientes.

Pasteurizado

La mezcla obtenida se pasteurizo a 65 °C por 5 minutos y se retiro del fuego. No se debe dejar por más tiempo debido que a altas temperaturas las propiedades de sus componentes.

Enfriado

Se realizo el enfriado de la mezcla pasteurizada.

Almacenado

Una vez enfriada la bebida se envaso y se almaceno a temperatura de refrigeración.

Variables dependientes a medir

Características sensoriales

Se escogió a un panel sensorial de 30 jueces no entrenados para el análisis de color, olor, sabor y apariencia de las muestras de cada uno de los tratamientos en estudio.

Se utilizó una escala hedónica para determinar medir las características sensoriales

Parámetros físico-químicos

Se tomo muestras de cada tratamiento para valorar el contenido de acidez, pH, °Brix

Método de ensayo para la determinación de acidez

Método de rutina

Titulación con una solución volumétrica patrón de hidróxido de sodio en presencia de fenolftaleína como indicador

Reactivos

Se Uso solo reactivos de grado analítico reconocido y agua destilada o desmineralizada o agua de pureza equivalente.

Hidróxido de sodio, solución volumétrica patrón, $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/l. } 1)$

Soluciones de buffer, de pH conocido.

Fenolftaleína, 10g1 de una solución en etanol al 95% (volumen)

Equipos

Homogeneizador o mortero

Pipeta, para repartir 25ml, 50ml o 100ml.

Matraz erlemeyer, capaz de ser equipado con el condensador de reflujo (4,7).

Matraz aforado de capacidad de 250ml.

Vaso de precipitación, de capacidad de 250ml junto a un agitador mecánico o magnético.

Método de ensayo para la determinación de pH

Equipos

pH-metro, con una escala graduada en 0.05 unidades de pH o preferentemente menor.

Electrodos

Electrodos de vidrio: electrodos de diferentes formas geométricas pueden ser usados. Se almacenaron en agua.

Electrodo de calomelanos, contiene una solución saturada de cloruro de potasio

Sistema combinado de electrodos

Los electrodos de vidrios y calomelanos pueden ser montados dentro de un sistema combinado de electrodos, almacenar estos en agua, el nivel de la solución saturada de cloruro de potasio en el electrodo de calomelanos deberá estar por encima del nivel de agua.

Preparación de la muestra de ensayo

Productos líquidos y fácilmente filtrables (jugos, líquidos de compotas o de encurtidos, líquidos fermentados, etc.)

Mezclar la muestra de laboratorio cuidadosamente hasta que esté homogénea.

Método de ensayo para la determinación de °Brix

Concentración de sacarosa en una solución acuosa que tiene el mismo índice de refracción que el producto analizado, en condiciones específicas de preparación y temperatura

El índice de refracción de una solución de ensayo se mide a $20\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$, usando un refractómetro. El índice de refracción se correlaciona con la cantidad de sólidos solubles (expresado como la concentración de sacarosa) usando tablas o por lectura directa en el refractómetro de la fracción masa de sólidos solubles.

Reactivos

Usar solo reactivos de grado analítico reconocido

El agua utilizada deberá ser agua destilada dos veces en un aparato de vidrio borosilicato o su pureza deberá ser al menos equivalente.

Aparatos de laboratorio habituales y en particular lo siguiente

Refractómetro

3.2.5 Análisis estadístico

La información que se obtuvo respecto a las variables cualitativas fue sometida al análisis de varianza (ANOVA) para verificar diferencias significativas. En este caso, el modelo de ANOVA para las variables cualitativas, es el que se describe en la tabla 4. Las medias fueron sometidas, utilizando el test de Tukey ($p < 0.05$). Para estos análisis se utilizó el software Infostat.

Tabla 4. Modelo de Análisis de varianza para las variables cualitativas a evaluarse

Fuente de variación	Grados de libertad
Total	269
Factor A (mezclas)	2
Factor B (tiempo)	2
Interacción AB	4
Repeticiones (jueces)	29
Error experimental	232

Benavides, 2021

4. Resultados

4.1 Evaluación del grado de aceptabilidad del tratamiento de mejor aceptación, a través de una escala hedónica.

La Tabla 5 muestra los resultados de la evaluación sensorial por parte de un panel sensorial de jueces no entrenados. En la evaluación del color, la bebida probiótica a base de almendras enriquecida con extracto zanahoria y espinaca se evidenció que las formulaciones estudiadas muestran diferencia estadística entre sí, el tratamiento ganador fue T3 elaborado con 40% de espinaca y 60% de zanahoria y 2 días de fermentación con kéfir obtuvo una media de 4,37; el cuál no se diferenció de T1 elaborado con 20% de espinaca y 80% de zanahoria con fermentación con kéfir de 2 días, obtuvo una media de 3,70 mientras que los tratamientos de menor aceptación respecto al color fue T7 (20 % espinaca y 80 % zanahoria fermentado por 6 días) con una media de 2.23 y T8 (30 % espinaca y 70 % zanahoria con fermentación de 6 días) obtuvo una media de 2,10.

En la evaluación del olor se evidenció que tanto el tratamiento 3 como el 2 no tuvieron diferencia estadística y presentaron mayor aceptación sensorial con medias de 4,37 y 3,52 respectivamente. En la evaluación del sabor de la bebida los tratamientos T3, T4 Y T2 no presentaron diferencia significativa, con medias que fluctúan entre 3,1 y 4,13.

En el análisis de la apariencia, se evalúan aspectos como la textura, fluidez y aspecto general de la bebida, en base al criterio de los panelistas. Los tratamientos T1, T2, T3 y T4 no presentaron diferencia significativa, siendo los de mayor aceptación por parte de los jueces.

Tabla 5. Resultados del análisis sensorial

No	Factor A	Factor B	Color	Olor	Sabor	Apariencia
T ₁	a1: 2 días	b1: 20 % espinaca - 80 % zanahoria	3.70ab	3.50b	3.10bc	3.90a
T ₂	a1: 2 días	b2: 30 % espinaca - 70 % zanahoria	3.30b	3.53ab	3.33ab	3.57ab
T ₃	a1: 2 días	b3: 40 % espinaca - 60 % zanahoria	4.37a	4.37a	4.13a	4.47a
T ₄	a2: 4 días	b1: 20 % espinaca - 80 % zanahoria	3.37b	3.23bc	3.43ab	3.63ab
T ₅	a2: 4 días	b2: 30 % espinaca - 70 % zanahoria	3.03bc	2.97bcd	2.70bcd	2.63c
T ₆	a2: 4 días	b3: 40 % espinaca - 60 % zanahoria	3.07bc	2.63cd	2.67bcd	2.53c
T ₇	a3: 6 días	b1: 20 % espinaca - 80 % zanahoria	2.23d	2.20d	2.30cd	2.33c
T ₈	a3: 6 días	b2: 30 % espinaca - 70 % zanahoria	2.10d	2.47cd	2.23cd	2.27c
T ₉	a3: 6 días	b3: 40 % espinaca - 60 % zanahoria	2.43cd	2.40cd	2.07d	2.73bc
Coefficiente de variación (%)			31.51	34.39	37.49	36.40

 Benavides, 2021

Mediante el análisis sensorial efectuado a la bebida probiótica a base de almendras enriquecida con extracto zanahoria y espinaca se evidenció que el tratamiento T3 fue el de mayor aceptación en base a los atributos evaluados, de igual manera, se apreció que los tratamientos con mayor aceptación sensorial fueron los que presentaron menor tiempo de fermentación.

4.2 Análisis de vitamina A y actividad microbiana de microorganismos presentes en la zanahoria y del tratamiento mejor evaluado sensorialmente.

Los resultados del análisis de vitamina A y actividad microbiana se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6. Análisis de Vitamina A y Actividad microbiana.

Muestra	Parámetros	Método	Resultados	Unidad
Bebida Probiótica a base de almendras con extracto de zanahoria y espinaca.	Vitamina A (Retinol)	Cervantes et. al. 2011 (Cromatografía)	43,67	UI retinol/Kg
	Conteo de Bacterias Probióticas	ISO 15214:1998 (Recuento en placas)	7,92 x 10⁶	UFC/g

Benavides, 2021

El tratamiento T3 elaborado con 40% de espinaca y 60% de zanahoria fue el mejor evaluado por parte del panel sensorial motivo por el cual se le realizó un análisis de vitamina A. Como resultados se obtuvo: vitamina A (43,67 UI retinol/Kg) y conteo de bacterias probióticas fue de $7,92 \times 10^6$ UFC/g.

4.3 Tiempo de vida útil para el tratamiento de mayor aceptación sensorial basado en criterios microbiológicos.

Los parámetros microbiológicos empleados en el tratamiento 3 para determinar la vida útil fueron: aerobios mesófilos, Coliformes totales, Hongos y levaduras, los cuales se encuentran descritos en la Tabla 7.

Los resultados evidenciaron ausencia de patógenos (<10 UFC/g) para cada uno de los parámetros analizados hasta los 30 días, estos resultados se mantienen dentro del rango permitido por la norma NTE INEN 706, por lo tanto, el tiempo de vida útil del producto es de al menos 30 días.

Tabla 7. Tiempo de vida Útil.

Parámetros	0 días	10 días	20 días	30 días	Unidad
Aerobios mesófilos	<10	<10	<10	<10	UFC/g
Coliformes totales	<10	<10	<10	<10	UFC/g
Hongos y levaduras	<10	<10	<10	<10	UFC/g

Benavides, 2021

5. Discusión

Gutiérrez et al.(s.f.) evaluaron el efecto del porcentaje de inóculo y del tiempo de incubación sobre las características físico-químicas y sensoriales de una bebida de kéfir, demostrando que las variaciones de 1, 2 y 3% no incidieron en los resultados de la evaluación fisicoquímica y sensorial, además se evidenció que el tiempo de fermentación adecuado es de 28 a 48 horas, acentuándose al final sus atributos sensoriales, lo cual coincide con el análisis sensorial efectuado a los distintos tratamientos, ya que se pudo apreciar que los tratamientos que presentaron menor tiempo de fermentación tuvieron mayor aceptación sensorial por parte del panel de jueces, siendo el tratamiento 3, elaborado con 40% de espinaca, 60% de zanahoria y 2 días de fermentación con kéfir el mejor evaluado.

Por su parte, Alvarado (2018) realizó un análisis sensorial con una escala hedónica de 1 a 7 en una bebida de kéfir, cuyos resultados obtenidos demostraron que la bebida funcional es considerada como un producto fluido, respecto al olor la bebida está considerada como un producto láctico acidificado, lo cual se podría considerar como una característica otorgada por el proceso metabólico de las levaduras presentes en el gránulo de kéfir. En el sabor, el ácido es el que predomina; obteniendo una puntuación media de 6,7 en la escala creciente de intensidad de sabor. Al igual que el olor, esta característica es típica de una fermentación realizada por las levaduras. En el análisis sensorial de esta investigación se pudo apreciar que los tratamientos que presentaron menor tiempo de fermentación no presentaban diferencia significativa entre ellos, y las características fueron del agrado de los catadores ya que el equivalente según la escala hedónica es “me gusta”.

El análisis de vitamina A se realizó al tratamiento T3 elaborado con 40% de espinaca y 60% de zanahoria, el cual fue el mejor evaluado por parte del panel sensorial, el resultado obtenido de vitamina A fue de 43,67 UI retinol/Kg, dicho valor resalta un importante aporte de los ingredientes hacia el producto final, cabe destacar que el método de pasteurización utilizado fue de 65 °C por 5 minutos, con el cual se pudo preservar el aporte nutricional de los ingredientes sin que estos se volatilicen, tal como lo expresan Berestan et al. (2010) quienes elaboraron un helado de verduras (tomate, zanahoria, espinaca) a base de leche de soja manifiestan que las altas propiedades nutricionales de los ingredientes utilizados se transfieren directamente al producto final casi sin alteración ya que se aplicó un tratamiento térmico suave al pasteurizar a 70/72 °C durante 15/30 s, con lo cual se destaca la presencia de vitaminas en el producto final. Por otra parte, Mata (2020) elaboró un helado a base de zanahoria con adición de alfalfa, con el fin de aportar hierro, vitamina A y vitamina C, el resultado obtenido para vitamina A fue de 0,13 mg /Kg, evidenciando un bajo aporte de este nutriente al producto final, en lo cual pudo incidir la pasteurización debido a que dicho proceso se llevó a cabo por 15 min. a 80 °C, siendo este el motivo por el cual pudieran volatilizarse las vitaminas.

El conteo de bacterias probióticas en el producto final fue de $7,92 \times 10^6$ UFC/g, estas bebidas exceden la cantidad mínima de bacterias probióticas requeridas en la Norma INEN 2395-2011 (1×10^4 UFC/g), lo cual se puede afirmar que se trata de una bebida probiótica. Así mismo, Bolaños (2014) elaboró dos bebidas, fermentadas con gránulos de kéfir en agua y leche, para corroborar si son bebidas probióticas según la NORMA INEN 2395-2011, en el análisis microbiológico la cantidad de bacterias probióticas para la bebida fermentada con

kéfir en agua fue de $2,4 \times 10^6$ UFC/g mientras que en leche tiene 2×10^6 UFC/g, cumpliendo con lo establecido en la normativa legal vigente.

En el análisis microbiológico se pudo evidenciar que hubo ausencia de patógenos ($<10^6$ UFC/g) tanto para aerobios mesófilos, coliformes totales, mohos y levaduras a los 10, 20 y 30 días, estos resultados se mantienen dentro del rango permitido por la norma NTE INEN 706, por lo tanto, el tiempo de vida útil del producto es de al menos 30 días. Estos resultados concuerdan con Tavares et al (2021) quienes estudiaron la viabilidad química, microbiológica y sensorial de bebidas de kéfir bajas en calorías y sin lácteos a partir de jugos de frutas tropicales mixtas, elaborando dos bebidas, una con sacarosa y otra con stevia, dichos autores concluyeron que las dos bebidas tienen un periodo de vida útil de 30 días a 5 °C.

6. Conclusiones

En el análisis sensorial efectuado a la bebida probiótica a base de almendras enriquecida con extracto zanahoria y espinaca se evidenció que los tratamientos con mayor aceptación sensorial fueron los que presentaron menor tiempo de fermentación, siendo el tratamiento T3 (elaborado con 40% de espinaca y 60% de zanahoria y con un período de fermentación con kéfir de 2 días) el mejor evaluado en cada uno de sus atributos (color, olor, sabor y textura).

El análisis de vitamina A se realizó al tratamiento T3 elaborado con 40% de espinaca y 60% de zanahoria, el cual fue el mejor evaluado por parte del panel sensorial, el resultado obtenido de vitamina A fue de 43,67 UI retinol/Kg, dicho valor resalta un importante aporte de los ingredientes hacia el producto final, cabe destacar que el método de pasteurización utilizado fue de 65 °C por 5 minutos.

El conteo de bacterias probióticas en el producto final fue de $7,92 \times 10^6$ UFC/g, estas bebidas exceden la cantidad mínima de bacterias probióticas requeridas en la Norma INEN 2395-2011 (1×10^4 UFC/g), lo cual se puede afirmar que se trata de una bebida probiótica.

Los resultados evidenciaron ausencia de patógenos (<10 UFC/g) para cada uno de los parámetros analizados hasta los 30 días, estos resultados se mantienen dentro del rango permitido por la norma NTE INEN 706, por lo tanto, el tiempo de vida útil del producto es de al menos 30 días.

7. Recomendaciones

En base a los resultados obtenidos en la investigación se recomienda:

Utilizar durante la pasteurización de la bebida temperaturas bajas (65 °C) con el fin de evitar que se volatilicen las vitaminas que aportan los ingredientes.

Realizar estudios reológicos del kéfir (tipo de fluido, viscosidad aparente, energía de activación) como una investigación complementaria que permita tener mayor información técnica y funcional de este producto.

Profundizar la utilización de otros sustratos de la misma naturaleza como el maní, que permitan verificar su comportamiento para el aprovechamiento industrial de este producto.

8. Bibliografía

- Almeida, P. y Zambrano. (2007). *Elaboración de jugo, pasta y polvo de zanahoria*. Tesis (Ingeniero Agroindustrial). Quito, Ecuador: Escuela Politécnica Nacional. 157 p
- Alvarado, P. M. (2018). *Desarrollo de un bioproceso para la obtención de una bebida funcional a partir de lactosuero en polvo y gránulos de kéfir*. (Tesis de pregrado). Recuperado de <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/8282>.
- Arumugam, M.; Raes, J.; Pelletier, E.; Le Paslier, D.; Yamada, T.; Mende, D.R.; Fernandes, G.R.; Tap, J.; Bruls, T.; Batto, J.M.; Bertalan, M.; Borruel, N.; Casellas, F.; Fernandez, L.; Gautier, L.; Hansen, T.; Hattori, M.; Hayashi, T.; Kleerebezem, M.; Kurokawa, K.; Leclerc, M.; Levenez, F.; Manichanh, C.; Nielsen, H.B.; Nielsen, T.; Pons, N.; Poulain, J.; Qin, J.; Sicheritz-Ponten, T.; Tims, S.; Torrents, D.; Ugarte, E.; Zoetendal, E.G.; Wang, J.; Guarner, F.; Pedersen, O.; de Vos, W.M.; Brunak, S.; Dore, J.; MetaHIT Consortium; Antolin, M.; Artiguenave, F.; Blottiere, H.M.; Almeida, M.; Brechot, C.; Cara, C.; Chervaux, C.; Cultrone, A.; Delorme, C.; Denariáz, G.; Dervyn, R.; Foerstn Atehortua, L.; Jaramillo, J. (2002). *El Poder de los vegetales.*, Bogotá –Colombia. Produmedios., 60.
- Berestan, D., Lagamma, M. P., Lavagetto, C., & Pinter, R. (2010). Helado de verduras a base de leche de soja. *Invenio*, 13(24), 137-146.
- Bolaños Ortega, V. (2014). *Elaboración de dos bebidas, fermentadas con gránulos de Kéfir en agua y leche, para corroborar si son bebidas probióticas según la Norma INEN 2395-2011* (Tesis de pregrado). Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Químicas.

- Cuzco, A. (2017). *Estudio de la caracterización reológica de la mezcla de leche de soja kefirada con tomate de árbol*. Recuperado de: <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/13109/1/T-ESPE-057242.pdf>
- da CP Miguel, M. G., Cardoso, P. G., Magalhães, K. T., y Schwan, R. F. (2011). Profile of microbial communities present in tibico (sugary kefir) grains from different Brazilian States. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(8), 1875-1884.
- Córdova, D y Jennifer E. (2015). Efecto Neuroprotector de la semilla de *Prunus dulcis* "almendra" sobre el tejido nervioso en ratones inducidos a estrés por desorientación motora. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Donkor, O.N.; Henriksson, A.; Vasiljevic, T.; Shah, N.P. α Galactosidase and proteolytic activities of selected probiotic and dairy cultures in fermented soymilk. *Food Chem.* 2007, 104, 10-20
- er, K.U.; Friss, C.; van de Guchte, M.; Guedon, E.; Haimet, F.; Huber, W.; van Hylckama-Vlieg, J.; Jamet, A.; Juste, C.; Kaci, G.; Knol, J.; Lakhdari, O.; Layec, S.; Le Roux, K.; Maguin, E.; Merieux, A.; Melo Minardi, R.; M'rini, C.; Muller, J.; Oozeer, R.; Parkhill, J.; Renault, P.; Rescigno, M.; Sanchez, N.; Sunagawa, S.; Torrejon, A.; Turner, K.; Vandemeulebrouck, G.; Varela, E.; Winogradsky, Y.; Zeller, G.; Weissenbach, J.; Ehrlich, S.D.; Bork, P. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 2011, 473, 174-180.
- Golowczyc, M. A., Mobili, P., Garrote, G. L., Abraham, A. G., y De Antoni, G. L. (2007). Protective action of *Lactobacillus kefir* carrying S-layer protein against *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. *International Journal of Food Microbiology*, 118(3), 264-273.

- Gulitz, A., Stadie, J., Wenning, M., Ehrmann, MA y Vogel, RF (2011). La diversidad microbiana del kéfir de agua. *Revista internacional de microbiología de alimentos*, 151 (3), 284-288.
- Gutiérrez, Hernández, Q. P., Canales, I. C., Oyagüe, J. M., & Virginia, G. EFECTO DEL PORCENTAJE DE INÓCULO Y DEL TIEMPO DE INCUBACIÓN SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DEL KEFIR.
- Heenan, C.N.; Adams, M.C.; Hosken, R.W.; Fleet, G.H. Survival and sensory acceptability of probiotic microorganisms in a nonfermented frozen vegetarian dessert. *LWT - Food Science and Technology* 2004, 37, 461-466
- Huaraca, P. (2010). Estudio investigativo de la espinaca, cultivo, producción, explotación, análisis de sus propiedades nutricionales y creación de nuevas recetas culinarias. (Tesis) (Administrador Gastronómico). Universidad Tecnológica Equinoccial, Facultad de Turismo y Preservación Ambiental, Escuela de Gastronomía. Quito – Ecuador.
- Infobae (2015). Una mala alimentación, el talón de Aquiles del sistema inmune. Disponible en: <https://www.infobae.com/2015/02/22/1628170-una-mala-alimentacion-el-talon-aquiles-del-sistema-inmune/>.
- Instituto Ecuatoriano de Normalización (2011). NTE INEN 2395:2011. Leches Fermentadas.
- Licata, M. (2013). La espinaca: Beneficios, propiedades y nutrientes. Zonadiet. <http://www.zonadiet.com/comida/espinaca.htm>.
- Lourens-Hattingh, A.; Viljoen, B.C. Yogurt as probiotic carrier food. *Int. Dairy J.* 2001, 11, 1-17.

- Magalhaes, K. T., Pereira, G. D. M., Dias, D. R., y Schwan, R. F. (2010). Microbial communities and chemical changes during fermentation of sugary Brazilian kefir. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(7), 1241-1250.
- Mancera, J. (2010). Diseño de una pulpa funcional de frutas y hortalizas con propiedades antioxidantes y probióticas. Tesis (Magister en Ingeniería Química). Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Bogotá. 112 p.
- Mandalari, G. (2012). Potential Health Benefits of Almond Skin. *Bioprocessing & Biotechniques*, 2(5), p.1.
- Mata, N., (2020). *Helado de zanahoria (Daucus carota) en base láctea enriquecido con extracto de alfalfa (Medicago sativa) como fuente de hierro* (Tesis de pregrado) Universidad Agraria del Ecuador.
- MINSA (2001). Necesidades nutricionales del ser humano. En base de datos CENAN-INS [En línea]. Lima, Perú, Disponible en: http://www.minsa.gob.pe/portalweb/06prevencion/prevencion_2.asp?sub5=2
- Monreal, A. (2019). Almendras: un fruto seco lleno de propiedades y beneficios. Disponible en: <https://www.lavanguardia.com/comer/materia-prima/20180713/45836992969/almendras-propiedades-beneficios-alimentos-valor-nutricional.html>
- Murat, S. (2014). Zonadiet.com. Obtenido de El Yogurt (yogur o yogurth): <https://www.zonadiet.com/bebidas/yogurt.htm>
- Nova, E., Montero, A., Gómez, S., y Marcos, A. (2004). La estrecha relación entre la nutrición y el sistema inmunitario. *Soporte Nutricional en el Paciente Oncológico*. Gómez Candela C, Sastre Gallego A (eds). Barcelona: Glosa, 9-21.


- Ouwehand, A.C. Antiallergic Effects of Probiotics. J. Nutr. 2007, 137, 794S-797S.
- Palmetti, N. (2012) Nutrición Depurativa. Córdoba, Argentina.
- Pamplona, J. (2004). Placer y salud en su mesa., Buenos Aires – Argentina. ACES. 46 – 47.
- Pedraza Guevara, S. (Julio de 2017). researchgate.net. Recuperado el 17 de Mayo de 2018, de researchgate.net: https://www.researchgate.net/profile/Maria_Santos_Pedraza_Guevara/publication/283641723_Kefir_culture_pellet_red_grape_juice/links/5641f90708ae24cd3e42a362/Kefir-culture-pellet-red-grape-juice.pdf
- Pribis, P. y Shukitt-Hale, B. (2014). Cognition: the new frontier for nuts and berries. Am J Clin Nutr; 100 (suppl):347S–52S.
- Quicazán, M. C., Sandoval, A., y Padilla, G. (2001). Evaluación de la fermentación de bebida de soya con un cultivo láctico. Revista Colombiana de Biotecnología, 3(2), 92-99.
- Reina, C. (2007). Manejo post-cosecha y evaluación de calidad de la zanahoria (*Daucus carota* L.) que se cultivan en la ciudad de Neiva Programa de Ingeniería Agrícola Neiva, Colombia: Universidad Surcolombiana. Disponible en: <http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/jspui/bitstream/11348/4697/2/Manejo%20poscosecha%20y%20evaluacion%20de%20la%20calidad%20en%20Zanahoria.pdf>
- Rivas, C. (2013). fermentación de leche bovina adicionando cepas de kéfir liofilizado (*Lactobacillus kefir*, *Shaccharomyces kephir*) para la obtención de una bebida kefirada, UTE Santo Domingo, 2012. Tesis de grado Universidad Tecnológica Equinoccial.

- Sánchez Egeuz, M. I. (2012). Diseño de yogurt probiótico con zanahoria, edulcorado con Stevia (Bachelor's thesis, Universidad del Azuay).
- Sánchez Jáuregui, C., y Méndez Rojas, M. (2016). Repositorio de la Universidad de Azuay. Obtenido de Repositorio de la Universidad de Azuay: <http://dspace.uazuay.edu.ec/handle/datos/5725>
- Secretaria Nacional de Planificación y Desarrollo. (2015). Plan estratégico SENPLADES, (1). Recuperado de <http://www.planificacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2015/10/Plan-Estrategico-Senplades-2014-2017.pdf>
- Sobip (2009). Novedades de las Almendras. Disponible en: <http://www.sopib.com/es/20090527179/novedades/novedades/almendras.html>.
- Talwalkar, A.; Kailasapathy, K. The role of oxygen in the viability of probiotic bacteria with reference to *L. acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. *Curr. Issues Intest Microbiol.* 2004, 5, 1-8.
- Tavares, P. P. L. G., dos Anjos, E. A., Nascimento, R. Q., da Silva Cruz, L. F., Lemos, P. V. F., Druzian, J. I. y de Oliveira Mamede, M. E. (2021). Chemical, microbiological and sensory viability of low-calorie, dairy-free kefir beverages from tropical mixed fruit juices. *CyTA-Journal of Food*, 19(1), 457-464.
- Thomas R.G. and Gebhardt S.E. (2014). Nuts and seeds as sources of alpha and gamma tocopherols. Beltsville, Maryland. Disponible en: https://www.ars.usda.gov/ARSUserFiles/80400525/Articles/AICR06_NutSeed.pdf
- Thomson PLM. (2004). Diccionario de especialidades farmacéuticas.

- Vacharaksa, A.; Finlay, B.B. Gut microbiota: metagenomics to study complex ecology. *Curr. Biol.* 2010, 20, R569-71.
- Vanguardia (2019). Leche de almendras: propiedades, beneficios y valor nutricional. La Vanguardia ediciones. Disponible en: <https://www.lavanguardia.com/comer/materia-prima/20190422/461745811625/leche-almendras-propiedades-beneficios-valor-nutricional.html>.
- Velasco Muñoz, J., y Aznar Sánchez, J. (2016). El mercado mundial de la Almendra. *Revista Española De Economía Agraria*, (3079), 77-86. Disponible en: http://www.revistasice.com/CachePDF/BICE_3079_F8169DD3A4F26488A10660EFCBCC869F.pdf
- Waldherr, F. W., Doll, V. M., Meißner, D., y Vogel, R. F. (2010). Identification and characterization of a glucan-producing enzyme from *Lactobacillus hilgardii* TMW 1.828 involved in granule formation of water kefir. *Food Microbiology*, 27(5), 672-678.
- Wang, Y., Xu, N., Xi, A., Ahmed, Z., Zhang, B., y Bai, X. (2009). Effects of *Lactobacillus plantarum* MA2 isolated from Tibet kefir on lipid metabolism and intestinal microflora of rats fed on high-cholesterol diet. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 84(2), 341-347.
- Yoon, K.Y.; Woodams, E.E.; Hang, Y.D. Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria. *Bioresour. Technol.* 2006, 97, 1427-1430
- Zanin (2020). Qué es el kéfir, beneficios y cómo prepararlo. Disponible en: <https://www.tuasaude.com/es/kefir/>

9. Anexos

9.1 Anexo 1. Boleta para la prueba sensorial

		UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR													
		FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS													
		INGENIERÍA AGRÍCOLA MENCIÓN AGROINDUSTRIAL													
Adjunto a la presente boleta se le entregará 4 tratamientos las cuales deberá valorar cada parámetro según la escala que se presenta a continuación:															
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Categoría</th> <th>Valoración Numérica</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Me gusta mucho</td> <td>5</td> </tr> <tr> <td>Me gusta</td> <td>4</td> </tr> <tr> <td>Me gusta poco</td> <td>3</td> </tr> <tr> <td>No me gusta</td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>Me disgusta</td> <td>1</td> </tr> </tbody> </table>		Categoría	Valoración Numérica	Me gusta mucho	5	Me gusta	4	Me gusta poco	3	No me gusta	2	Me disgusta	1		
Categoría	Valoración Numérica														
Me gusta mucho	5														
Me gusta	4														
Me gusta poco	3														
No me gusta	2														
Me disgusta	1														
INDIQUE CON UNA (X) SEGÚN SU CRITERIO EN LOS ESPACIOS INDICADOS															
ATRIBUTOS	V.N.	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9					
COLOR	5														
	4														
	3														
	2														
	1														
OLOR	5														
	4														
	3														
	2														
	1														
SABOR	5														
	4														
	3														
	2														
	1														
TEXTURA	5														
	4														
	3														
	2														
	1														

Benavides, 2021



9.2 figura 2. Recepción de la materia prima.
Benavides, 2021



9.3 figura 3. Selección y lavado de la materia prima.
Benavides, 2021



9.4 figura 4. Pelado de la zanahoria.
Benavides, 2021



9.5 figura 5. Selección y lavado de la espinaca.
Benavides, 2021



9.6 figura 6. Triturado de la zanahoria con la leche de almendra.
Benavides, 2021



9.7 figura 7. Filtrado de la zanahoria y espinaca.
Benavides, 2021



9.8 figura 8. Homogenizado.
Benavides, 2021



9.9 figura 9. Pasteurizado a 65°C.
Benavides, 2021



9.10 figura 10. Pasteurizado a 65°C.
Benavides, 2021



9.11 figura 11. Evaluación de análisis sensorial .
Benavides, 2021

9.2 Anexo 2. Análisis estadísticos

Factor A (T. Ferm.)	Factor B (Mezcla)	Jueces	Color	Olor	Sabor	Apariencia
a1: 2 días	b1: 20%E + 80%Z	1	2	2	2	3
a1: 2 días	b1: 20%E + 80%Z	2	3	5	3	4
a1: 2 días	b1: 20%E + 80%Z	3	3	3	2	3
a1: 2 días	b1: 20%E + 80%Z	4	3	4	3	3
a1: 2 días	b1: 20%E + 80%Z	5	4	4	4	4
a1: 2 días	b1: 20%E + 80%Z	6	4	5	3	4
a1: 2 días	b1: 20%E + 80%Z	7	3	2	4	2
a1: 2 días	b1: 20%E + 80%Z	8	4	3	2	3
a1: 2 días	b1: 20%E + 80%Z	9	4	3	4	3
a1: 2 días	b1: 20%E + 80%Z	10	4	4	3	5
a1: 2 días	b1: 20%E + 80%Z	11	4	4	4	5
a1: 2 días	b1: 20%E + 80%Z	12	5	3	3	5
a1: 2 días	b1: 20%E + 80%Z	13	2	3	3	4
a1: 2 días	b1: 20%E + 80%Z	14	4	4	4	5
a1: 2 días	b1: 20%E + 80%Z	15	4	3	3	5
a1: 2 días	b1: 20%E + 80%Z	16	5	4	4	5
a1: 2 días	b1: 20%E + 80%Z	17	5	5	4	4
a1: 2 días	b1: 20%E + 80%Z	18	3	5	3	5
a1: 2 días	b1: 20%E + 80%Z	19	4	4	3	5
a1: 2 días	b1: 20%E + 80%Z	20	2	5	3	3
a1: 2 días	b1: 20%E + 80%Z	21	3	3	2	2
a1: 2 días	b1: 20%E + 80%Z	22	3	3	2	3
a1: 2 días	b1: 20%E + 80%Z	23	5	3	2	5
a1: 2 días	b1: 20%E + 80%Z	24	2	2	3	5
a1: 2 días	b1: 20%E + 80%Z	25	3	2	3	2
a1: 2 días	b1: 20%E + 80%Z	26	5	5	4	4
a1: 2 días	b1: 20%E + 80%Z	27	3	3	2	3
a1: 2 días	b1: 20%E + 80%Z	28	5	3	5	4
a1: 2 días	b1: 20%E + 80%Z	29	5	3	2	4
a1: 2 días	b1: 20%E + 80%Z	30	5	3	4	5
a1: 2 días	b2: 30%E + 70%Z	1	1	2	1	3
a1: 2 días	b2: 30%E + 70%Z	2	3	5	2	4
a1: 2 días	b2: 30%E + 70%Z	3	3	3	2	2
a1: 2 días	b2: 30%E + 70%Z	4	4	3	4	2
a1: 2 días	b2: 30%E + 70%Z	5	4	4	4	4
a1: 2 días	b2: 30%E + 70%Z	6	3	4	3	2
a1: 2 días	b2: 30%E + 70%Z	7	4	3	3	4
a1: 2 días	b2: 30%E + 70%Z	8	2	4	4	4
a1: 2 días	b2: 30%E + 70%Z	9	4	3	3	3
a1: 2 días	b2: 30%E + 70%Z	10	4	3	2	4
a1: 2 días	b2: 30%E + 70%Z	11	3	5	2	4

a1: 2 días	b2: 30%E + 70%Z	12	5	4	1	4
a1: 2 días	b2: 30%E + 70%Z	13	4	4	4	4
a1: 2 días	b2: 30%E + 70%Z	14	2	2	4	3
a1: 2 días	b2: 30%E + 70%Z	15	3	5	4	5
a1: 2 días	b2: 30%E + 70%Z	16	5	5	3	4
a1: 2 días	b2: 30%E + 70%Z	17	5	5	4	4
a1: 2 días	b2: 30%E + 70%Z	18	3	3	3	5
a1: 2 días	b2: 30%E + 70%Z	19	4	4	5	5
a1: 2 días	b2: 30%E + 70%Z	20	2	2	2	4
a1: 2 días	b2: 30%E + 70%Z	21	5	5	3	4
a1: 2 días	b2: 30%E + 70%Z	22	4	3	4	1
a1: 2 días	b2: 30%E + 70%Z	23	1	3	5	3
a1: 2 días	b2: 30%E + 70%Z	24	2	2	5	4
a1: 2 días	b2: 30%E + 70%Z	25	5	3	4	5
a1: 2 días	b2: 30%E + 70%Z	26	3	5	5	4
a1: 2 días	b2: 30%E + 70%Z	27	2	2	5	3
a1: 2 días	b2: 30%E + 70%Z	28	3	3	2	2
a1: 2 días	b2: 30%E + 70%Z	29	4	4	2	2
a1: 2 días	b2: 30%E + 70%Z	30	2	3	5	5
a1: 2 días	b3: 40%E + 60%Z	1	2	2	2	3
a1: 2 días	b3: 40%E + 60%Z	2	3	5	2	4
a1: 2 días	b3: 40%E + 60%Z	3	4	3	3	2
a1: 2 días	b3: 40%E + 60%Z	4	5	5	5	5
a1: 2 días	b3: 40%E + 60%Z	5	5	5	5	5
a1: 2 días	b3: 40%E + 60%Z	6	5	5	5	5
a1: 2 días	b3: 40%E + 60%Z	7	5	5	5	5
a1: 2 días	b3: 40%E + 60%Z	8	5	5	5	5
a1: 2 días	b3: 40%E + 60%Z	9	5	5	5	5
a1: 2 días	b3: 40%E + 60%Z	10	4	3	4	3
a1: 2 días	b3: 40%E + 60%Z	11	3	3	3	4
a1: 2 días	b3: 40%E + 60%Z	12	4	5	3	5
a1: 2 días	b3: 40%E + 60%Z	13	4	5	4	3
a1: 2 días	b3: 40%E + 60%Z	14	4	4	3	5
a1: 2 días	b3: 40%E + 60%Z	15	5	5	4	3
a1: 2 días	b3: 40%E + 60%Z	16	5	5	5	5
a1: 2 días	b3: 40%E + 60%Z	17	5	5	5	5
a1: 2 días	b3: 40%E + 60%Z	18	5	5	5	5
a1: 2 días	b3: 40%E + 60%Z	19	3	3	3	5
a1: 2 días	b3: 40%E + 60%Z	20	4	3	4	5
a1: 2 días	b3: 40%E + 60%Z	21	4	3	3	4
a1: 2 días	b3: 40%E + 60%Z	22	5	5	4	5
a1: 2 días	b3: 40%E + 60%Z	23	5	5	4	4
a1: 2 días	b3: 40%E + 60%Z	24	5	5	5	5
a1: 2 días	b3: 40%E + 60%Z	25	4	4	5	5

a1: 2 días	b3: 40%E + 60%Z	26	5	5	4	4
a1: 2 días	b3: 40%E + 60%Z	27	4	4	5	5
a1: 2 días	b3: 40%E + 60%Z	28	4	4	4	5
a1: 2 días	b3: 40%E + 60%Z	29	5	5	5	5
a1: 2 días	b3: 40%E + 60%Z	30	5	5	5	5
a2: 4 días	b1: 20%E + 80%Z	1	3	4	4	5
a2: 4 días	b1: 20%E + 80%Z	2	3	3	5	5
a2: 4 días	b1: 20%E + 80%Z	3	2	1	5	4
a2: 4 días	b1: 20%E + 80%Z	4	5	4	3	2
a2: 4 días	b1: 20%E + 80%Z	5	5	4	4	5
a2: 4 días	b1: 20%E + 80%Z	6	3	5	5	3
a2: 4 días	b1: 20%E + 80%Z	7	2	5	4	3
a2: 4 días	b1: 20%E + 80%Z	8	3	3	3	3
a2: 4 días	b1: 20%E + 80%Z	9	4	4	4	5
a2: 4 días	b1: 20%E + 80%Z	10	2	2	5	5
a2: 4 días	b1: 20%E + 80%Z	11	2	2	4	4
a2: 4 días	b1: 20%E + 80%Z	12	3	3	3	4
a2: 4 días	b1: 20%E + 80%Z	13	2	2	5	5
a2: 4 días	b1: 20%E + 80%Z	14	3	5	5	4
a2: 4 días	b1: 20%E + 80%Z	15	4	3	2	2
a2: 4 días	b1: 20%E + 80%Z	16	3	3	2	2
a2: 4 días	b1: 20%E + 80%Z	17	3	3	5	5
a2: 4 días	b1: 20%E + 80%Z	18	2	2	5	5
a2: 4 días	b1: 20%E + 80%Z	19	5	5	4	4
a2: 4 días	b1: 20%E + 80%Z	20	3	1	1	2
a2: 4 días	b1: 20%E + 80%Z	21	5	4	1	1
a2: 4 días	b1: 20%E + 80%Z	22	5	5	3	1
a2: 4 días	b1: 20%E + 80%Z	23	4	2	3	4
a2: 4 días	b1: 20%E + 80%Z	24	4	1	1	4
a2: 4 días	b1: 20%E + 80%Z	25	5	4	1	1
a2: 4 días	b1: 20%E + 80%Z	26	3	3	4	4
a2: 4 días	b1: 20%E + 80%Z	27	2	2	3	3
a2: 4 días	b1: 20%E + 80%Z	28	4	4	1	4
a2: 4 días	b1: 20%E + 80%Z	29	4	4	3	5
a2: 4 días	b1: 20%E + 80%Z	30	3	4	5	5
a2: 4 días	b2: 30%E + 70%Z	1	5	2	2	2
a2: 4 días	b2: 30%E + 70%Z	2	4	4	4	4
a2: 4 días	b2: 30%E + 70%Z	3	2	2	1	1
a2: 4 días	b2: 30%E + 70%Z	4	3	3	3	3
a2: 4 días	b2: 30%E + 70%Z	5	4	4	4	4
a2: 4 días	b2: 30%E + 70%Z	6	2	2	2	2
a2: 4 días	b2: 30%E + 70%Z	7	1	1	3	4
a2: 4 días	b2: 30%E + 70%Z	8	3	4	4	4
a2: 4 días	b2: 30%E + 70%Z	9	4	3	4	1

a2: 4 días	b2: 30%E + 70%Z	10	1	3	4	5
a2: 4 días	b2: 30%E + 70%Z	11	5	5	3	2
a2: 4 días	b2: 30%E + 70%Z	12	5	5	4	2
a2: 4 días	b2: 30%E + 70%Z	13	5	3	3	2
a2: 4 días	b2: 30%E + 70%Z	14	4	4	1	1
a2: 4 días	b2: 30%E + 70%Z	15	4	4	4	2
a2: 4 días	b2: 30%E + 70%Z	16	3	3	2	4
a2: 4 días	b2: 30%E + 70%Z	17	5	5	5	4
a2: 4 días	b2: 30%E + 70%Z	18	1	5	1	1
a2: 4 días	b2: 30%E + 70%Z	19	1	1	1	2
a2: 4 días	b2: 30%E + 70%Z	20	2	2	3	4
a2: 4 días	b2: 30%E + 70%Z	21	2	3	4	2
a2: 4 días	b2: 30%E + 70%Z	22	4	2	2	3
a2: 4 días	b2: 30%E + 70%Z	23	3	2	2	3
a2: 4 días	b2: 30%E + 70%Z	24	3	2	2	2
a2: 4 días	b2: 30%E + 70%Z	25	3	4	2	2
a2: 4 días	b2: 30%E + 70%Z	26	2	2	2	2
a2: 4 días	b2: 30%E + 70%Z	27	2	2	2	2
a2: 4 días	b2: 30%E + 70%Z	28	3	3	3	3
a2: 4 días	b2: 30%E + 70%Z	29	2	2	1	5
a2: 4 días	b2: 30%E + 70%Z	30	3	2	3	1
a2: 4 días	b3: 40%E + 60%Z	1	2	2	2	3
a2: 4 días	b3: 40%E + 60%Z	2	3	3	3	3
a2: 4 días	b3: 40%E + 60%Z	3	4	3	2	1
a2: 4 días	b3: 40%E + 60%Z	4	5	5	5	4
a2: 4 días	b3: 40%E + 60%Z	5	3	3	3	3
a2: 4 días	b3: 40%E + 60%Z	6	3	3	3	3
a2: 4 días	b3: 40%E + 60%Z	7	4	4	4	4
a2: 4 días	b3: 40%E + 60%Z	8	2	2	2	2
a2: 4 días	b3: 40%E + 60%Z	9	3	3	3	1
a2: 4 días	b3: 40%E + 60%Z	10	2	1	4	5
a2: 4 días	b3: 40%E + 60%Z	11	4	4	3	2
a2: 4 días	b3: 40%E + 60%Z	12	2	1	1	3
a2: 4 días	b3: 40%E + 60%Z	13	2	2	2	2
a2: 4 días	b3: 40%E + 60%Z	14	3	3	2	2
a2: 4 días	b3: 40%E + 60%Z	15	5	3	1	2
a2: 4 días	b3: 40%E + 60%Z	16	4	2	1	3
a2: 4 días	b3: 40%E + 60%Z	17	4	2	2	1
a2: 4 días	b3: 40%E + 60%Z	18	2	3	2	3
a2: 4 días	b3: 40%E + 60%Z	19	3	4	3	4
a2: 4 días	b3: 40%E + 60%Z	20	2	1	2	1
a2: 4 días	b3: 40%E + 60%Z	21	3	3	3	3
a2: 4 días	b3: 40%E + 60%Z	22	5	2	2	1
a2: 4 días	b3: 40%E + 60%Z	23	4	4	5	2

a2: 4 días	b3: 40%E + 60%Z	24	3	1	3	4
a2: 4 días	b3: 40%E + 60%Z	25	2	2	2	2
a2: 4 días	b3: 40%E + 60%Z	26	4	4	4	4
a2: 4 días	b3: 40%E + 60%Z	27	1	3	3	1
a2: 4 días	b3: 40%E + 60%Z	28	3	2	2	2
a2: 4 días	b3: 40%E + 60%Z	29	3	3	3	3
a2: 4 días	b3: 40%E + 60%Z	30	2	1	3	2
a3: 6 días	b1: 20%E + 80%Z	1	1	4	3	5
a3: 6 días	b1: 20%E + 80%Z	2	2	4	2	4
a3: 6 días	b1: 20%E + 80%Z	3	1	1	4	3
a3: 6 días	b1: 20%E + 80%Z	4	4	3	3	1
a3: 6 días	b1: 20%E + 80%Z	5	2	2	2	2
a3: 6 días	b1: 20%E + 80%Z	6	2	3	3	1
a3: 6 días	b1: 20%E + 80%Z	7	2	3	1	3
a3: 6 días	b1: 20%E + 80%Z	8	2	2	1	2
a3: 6 días	b1: 20%E + 80%Z	9	3	1	3	3
a3: 6 días	b1: 20%E + 80%Z	10	1	1	2	2
a3: 6 días	b1: 20%E + 80%Z	11	3	1	1	2
a3: 6 días	b1: 20%E + 80%Z	12	2	1	2	2
a3: 6 días	b1: 20%E + 80%Z	13	3	1	1	2
a3: 6 días	b1: 20%E + 80%Z	14	2	2	1	1
a3: 6 días	b1: 20%E + 80%Z	15	3	3	3	3
a3: 6 días	b1: 20%E + 80%Z	16	1	1	4	3
a3: 6 días	b1: 20%E + 80%Z	17	1	3	3	1
a3: 6 días	b1: 20%E + 80%Z	18	3	1	3	1
a3: 6 días	b1: 20%E + 80%Z	19	4	3	2	2
a3: 6 días	b1: 20%E + 80%Z	20	2	3	2	3
a3: 6 días	b1: 20%E + 80%Z	21	1	2	2	2
a3: 6 días	b1: 20%E + 80%Z	22	4	3	2	2
a3: 6 días	b1: 20%E + 80%Z	23	3	3	3	2
a3: 6 días	b1: 20%E + 80%Z	24	2	2	2	2
a3: 6 días	b1: 20%E + 80%Z	25	4	4	4	4
a3: 6 días	b1: 20%E + 80%Z	26	2	2	2	2
a3: 6 días	b1: 20%E + 80%Z	27	1	1	2	4
a3: 6 días	b1: 20%E + 80%Z	28	3	3	2	2
a3: 6 días	b1: 20%E + 80%Z	29	2	2	2	2
a3: 6 días	b1: 20%E + 80%Z	30	1	1	2	2
a3: 6 días	b2: 30%E + 70%Z	1	1	2	2	2
a3: 6 días	b2: 30%E + 70%Z	2	4	3	3	3
a3: 6 días	b2: 30%E + 70%Z	3	1	2	2	2
a3: 6 días	b2: 30%E + 70%Z	4	3	3	4	1
a3: 6 días	b2: 30%E + 70%Z	5	2	1	1	1
a3: 6 días	b2: 30%E + 70%Z	6	2	3	3	3
a3: 6 días	b2: 30%E + 70%Z	7	1	5	3	3

a3: 6 días	b2: 30%E + 70%Z	8	2	4	1	1
a3: 6 días	b2: 30%E + 70%Z	9	2	4	1	1
a3: 6 días	b2: 30%E + 70%Z	10	1	2	3	3
a3: 6 días	b2: 30%E + 70%Z	11	2	1	3	1
a3: 6 días	b2: 30%E + 70%Z	12	2	3	1	4
a3: 6 días	b2: 30%E + 70%Z	13	1	2	4	2
a3: 6 días	b2: 30%E + 70%Z	14	1	3	5	2
a3: 6 días	b2: 30%E + 70%Z	15	3	3	3	3
a3: 6 días	b2: 30%E + 70%Z	16	2	1	2	1
a3: 6 días	b2: 30%E + 70%Z	17	1	3	4	5
a3: 6 días	b2: 30%E + 70%Z	18	3	2	2	1
a3: 6 días	b2: 30%E + 70%Z	19	2	5	2	2
a3: 6 días	b2: 30%E + 70%Z	20	2	1	3	2
a3: 6 días	b2: 30%E + 70%Z	21	4	4	1	1
a3: 6 días	b2: 30%E + 70%Z	22	2	1	3	1
a3: 6 días	b2: 30%E + 70%Z	23	3	2	2	4
a3: 6 días	b2: 30%E + 70%Z	24	2	1	1	1
a3: 6 días	b2: 30%E + 70%Z	25	3	2	1	1
a3: 6 días	b2: 30%E + 70%Z	26	3	2	2	4
a3: 6 días	b2: 30%E + 70%Z	27	1	2	2	3
a3: 6 días	b2: 30%E + 70%Z	28	2	1	1	4
a3: 6 días	b2: 30%E + 70%Z	29	2	4	1	5
a3: 6 días	b2: 30%E + 70%Z	30	3	2	1	1
a3: 6 días	b3: 40%E + 60%Z	1	2	2	1	5
a3: 6 días	b3: 40%E + 60%Z	2	1	1	3	2
a3: 6 días	b3: 40%E + 60%Z	3	3	4	4	4
a3: 6 días	b3: 40%E + 60%Z	4	2	2	1	1
a3: 6 días	b3: 40%E + 60%Z	5	4	3	3	4
a3: 6 días	b3: 40%E + 60%Z	6	2	2	1	2
a3: 6 días	b3: 40%E + 60%Z	7	3	4	1	1
a3: 6 días	b3: 40%E + 60%Z	8	2	1	2	3
a3: 6 días	b3: 40%E + 60%Z	9	1	1	2	5
a3: 6 días	b3: 40%E + 60%Z	10	3	3	1	5
a3: 6 días	b3: 40%E + 60%Z	11	3	1	2	2
a3: 6 días	b3: 40%E + 60%Z	12	2	1	1	2
a3: 6 días	b3: 40%E + 60%Z	13	3	2	4	2
a3: 6 días	b3: 40%E + 60%Z	14	2	3	4	1
a3: 6 días	b3: 40%E + 60%Z	15	2	2	1	4
a3: 6 días	b3: 40%E + 60%Z	16	2	3	1	5
a3: 6 días	b3: 40%E + 60%Z	17	2	1	1	4
a3: 6 días	b3: 40%E + 60%Z	18	1	2	4	4
a3: 6 días	b3: 40%E + 60%Z	19	2	5	3	2
a3: 6 días	b3: 40%E + 60%Z	20	1	1	2	1
a3: 6 días	b3: 40%E + 60%Z	21	3	2	3	2

a3: 6 días	b3: 40%E + 60%Z	22	3	3	2	2
a3: 6 días	b3: 40%E + 60%Z	23	3	3	3	2
a3: 6 días	b3: 40%E + 60%Z	24	3	1	2	3
a3: 6 días	b3: 40%E + 60%Z	25	4	4	2	3
a3: 6 días	b3: 40%E + 60%Z	26	2	3	2	5
a3: 6 días	b3: 40%E + 60%Z	27	1	2	2	1
a3: 6 días	b3: 40%E + 60%Z	28	3	3	1	1
a3: 6 días	b3: 40%E + 60%Z	29	3	3	2	1
a3: 6 días	b3: 40%E + 60%Z	30	5	4	1	3

Análisis de la varianza

Color

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Color	270	0,47	0,39	31,51

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	194,13	37	5,25	5,62	<0,0001
Factor A (T. Ferm.)	106,87	2	53,43	57,21	<0,0001
Factor B (Mezcla)	10,42	2	5,21	5,58	0,0043
Factor A (T. Ferm.)*Factor..	10,71	4	2,68	2,87	0,0240
Jueces	66,13	29	2,28	2,44	0,0001
Error	216,67	232	0,93		
Total	410,80	269			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,77565

Error: 0,9339 gl: 232

Factor A (T. Ferm.)	Factor B (Mezcla)	Medias	n	E.E.	
a1: 2 días	b3: 40%E + 60%Z	4,37	30	0,18	A
a1: 2 días	b1: 20%E + 80%Z	3,70	30	0,18	A B
a2: 4 días	b1: 20%E + 80%Z	3,37	30	0,18	B
a1: 2 días	b2: 30%E + 70%Z	3,30	30	0,18	B
a2: 4 días	b3: 40%E + 60%Z	3,07	30	0,18	B C
a2: 4 días	b2: 30%E + 70%Z	3,03	30	0,18	B C
a3: 6 días	b3: 40%E + 60%Z	2,43	30	0,18	C D
a3: 6 días	b1: 20%E + 80%Z	2,23	30	0,18	D
a3: 6 días	b2: 30%E + 70%Z	2,10	30	0,18	D

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

Olor

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Olor	270	0,41	0,32	34,39

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	176,26	37	4,76	4,38	<0,0001
Factor A (T. Ferm.)	94,96	2	47,48	43,63	<0,0001
Factor B (Mezcla)	1,36	2	0,68	0,62	0,5373
Factor A (T. Ferm.)*Factor..	19,69	4	4,92	4,52	0,0015
Jueces	60,26	29	2,08	1,91	0,0048
Error	252,44	232	1,09		
Total	428,70	269			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,83725

Error: 1,0881 gl: 232

Factor A (T. Ferm.)	Factor B (Mezcla)	Medias	n	E.E.		
a1: 2 días	b3: 40%E + 60%Z	4,37	30	0,19	A	
a1: 2 días	b2: 30%E + 70%Z	3,53	30	0,19	A	B
a1: 2 días	b1: 20%E + 80%Z	3,50	30	0,19		B
a2: 4 días	b1: 20%E + 80%Z	3,23	30	0,19		B C
a2: 4 días	b2: 30%E + 70%Z	2,97	30	0,19		B C D
a2: 4 días	b3: 40%E + 60%Z	2,63	30	0,19		C D
a3: 6 días	b2: 30%E + 70%Z	2,47	30	0,19		C D
a3: 6 días	b3: 40%E + 60%Z	2,40	30	0,19		C D
a3: 6 días	b1: 20%E + 80%Z	2,20	30	0,19		D

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

Sabor

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Sabor	270	0,36	0,25	37,49

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	149,96	37	4,05	3,46	<0,0001
Factor A (T. Ferm.)	78,99	2	39,49	33,75	<0,0001
Factor B (Mezcla)	2,27	2	1,14	0,97	0,3800
Factor A (T. Ferm.)*Factor..	27,48	4	6,87	5,87	0,0002
Jueces	41,22	29	1,42	1,21	0,2160
Error	271,48	232	1,17		
Total	421,44	269			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,86824

Error: 1,1702 gl: 232

Factor A (T. Ferm.)	Factor B (Mezcla)	Medias	n	E.E.		
a1: 2 días	b3: 40%E + 60%Z	4,13	30	0,20	A	
a2: 4 días	b1: 20%E + 80%Z	3,43	30	0,20	A	B
a1: 2 días	b2: 30%E + 70%Z	3,33	30	0,20	A	B
a1: 2 días	b1: 20%E + 80%Z	3,10	30	0,20		B C
a2: 4 días	b2: 30%E + 70%Z	2,70	30	0,20		B C D
a2: 4 días	b3: 40%E + 60%Z	2,67	30	0,20		B C D
a3: 6 días	b1: 20%E + 80%Z	2,30	30	0,20		C D
a3: 6 días	b2: 30%E + 70%Z	2,23	30	0,20		C D
a3: 6 días	b3: 40%E + 60%Z	2,07	30	0,20		D

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

Apariencia

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Apariencia	270	0,41	0,31	36,40

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	205,30	37	5,55	4,31	<0,0001
Factor A (T. Ferm.)	110,43	2	55,21	42,86	<0,0001
Factor B (Mezcla)	11,94	2	5,97	4,63	0,0106
Factor A (T. Ferm.)*Factor..	26,50	4	6,63	5,14	0,0005
Jueces	56,43	29	1,95	1,51	0,0517
Error	298,90	232	1,29		
Total	504,21	269			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,91104


Error: 1,2884 gl: 232

Factor A (T. Ferm.)	Factor B (Mezcla)	Medias	n	E.E.	
a1: 2 días	b3: 40%E + 60%Z	4,47	30	0,21	A

a1: 2 días	b1: 20%E + 80%Z	3,90	30	0,21	A
a2: 4 días	b1: 20%E + 80%Z	3,63	30	0,21	A B
a1: 2 días	b2: 30%E + 70%Z	3,57	30	0,21	A B
a3: 6 días	b3: 40%E + 60%Z	2,73	30	0,21	B C
a2: 4 días	b2: 30%E + 70%Z	2,63	30	0,21	C
a2: 4 días	b3: 40%E + 60%Z	2,53	30	0,21	C
a3: 6 días	b1: 20%E + 80%Z	2,33	30	0,21	C
a3: 6 días	b2: 30%E + 70%Z	2,27	30	0,21	C

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

9.3 Anexo 3. Análisis de vitamina A y contenido de bacterias Probióticas



ANALYTICAL LABORATORIES
TESTING & CONSULTING


INFORME DE RESULTADOS
IDR 30923-2021

Fecha: 09 de Julio del 2021

DATOS DEL CLIENTE						
Nombre	BENAVIDES ARCALLES JULEXI MARIANELA					
Dirección	Naranjito					
Teléfono	0989106200					
Contacto	Sra. Julexi Benavides Arcalles					
DATOS DE LA MUESTRA						
Tipo de muestra	Bebida Probiótica	Cantidad	Aprox. 300 mL			
No. de muestras	1 (n=5)	Lote	N/A			
Presentación	Frasco plástico	Fecha de recepción	01 de Julio del 2021			
Colecta de muestra	Realizado por el CLIENTE	Fecha de colecta de muestra	N/A			
CONDICIONES DEL ANALISIS						
Temperatura (°C)	22.7	Humedad (%)	51.5			
Fecha de Inicio de Análisis			03 de Julio del 2021			
Fecha de Finalización del análisis			09 de Julio del 2021			
RESULTADOS						
CODIGO CLIENTE	CODIGO UBA	PARAMETROS	METODO	RESULTADOS	Unidad	Límite de Cuantificación
Bebida a base de Manzana y Kiwi con Probióticos y Prebióticos	UBA-30923-1	Vitamina A (Retinol)	Cervantes et. al. 2011 (Cromatografía)	43.67	U/g	-
		Cuento de Bacterias Probióticas	ISO 15214:1998 (Recuento en placas)	7.92 x 10 ⁶	UFC/g	10
		Organolépticos	Sensorial	Aspecto: Líquido ligeramente viscoso Olor: característico Color: Verde		-
Observaciones: <ol style="list-style-type: none"> Los resultados emitidos en este informe, corresponden únicamente a la(s) muestra(s) recibidas por el laboratorio. No siendo extensivo a cualquier lote. Este reporte no debe ser reproducido parcial o totalmente, excepto con la aprobación escrita por parte del laboratorio. Nomenclatura: N.D. = No Detectable; N.A. = No aplica. <10 = Ausencia de crecimiento en la menor dilución empleada. La información relacionada con la toma de muestra fue proporcionada por el cliente. El Laboratorio no se responsabiliza de la veracidad de la información que ha sido proporcionada por el cliente y que puede afectar directamente a la validez de los resultados. 						

FOR ADM. 04 R01

Página 1 de 1



Av. Carlos L. Plaza Dañín, Cda. La FAE, Mz. 20 solar 12 (Frente al primer bloque de la Abrazadora)
 Guayaquil - Ecuador
 Celular: 09 9271 7590 / 09 8478 0671
 Email: info@ubalab.com
 www.uba-lab.com

CERTIFICACIÓN LABORATORIO DE ANÁLISIS QUÍMICO Y BIOLÓGICO
 Reconocido por el Ministerio de Salud Pública del Ecuador
 Reconocido por el Ministerio de Agricultura del Ecuador
 Reconocido por el Ministerio de Industrias del Ecuador

9.4 Anexo 4. Análisis de Vida Útil.



INFORME DE RESULTADOS IDR 30924-2021

Fecha: 10 de Agosto del 2021

DATOS DEL CLIENTE						
Nombre	BENAVIDES ARCALLES JULEXI MARIANELA					
Dirección	Naranjo					
Teléfono	0989108200					
Contacto	Sra. Julexi Marianela Benavides Arcalles					
DATOS DE LA MUESTRA						
Tipo de muestra	Bebida Probiótica	Cantidad	Aprox. 300 mL			
No. de muestras	1 (n=5)	Lote	N/A			
Presentación	Botella plástica	Fecha de recepción	01 de Julio del 2021			
Toma de muestra	Realizado por Cliente	Fecha toma de muestra	N/A			
CONDICIONES DEL ANALISIS						
Temperatura (°C)	18.8	Humedad (%)	41.9			
Fecha de Inicio de Análisis			01 de Julio del 2021			
Fecha de Finalización del análisis			09 de Agosto del 2021			
RESULTADOS						
FICHA DE ESTABILIDAD NATURAL						
Temperatura= 30 ±5 °C			Temperatura= 30 ±5 °C			
CODIGO LABA-30924-1						
CODIGO CLIENTE: Bebida probiótica						
PARAMETROS	METODO	Tiempo Acelerado: 0 días	Tiempo Acelerado: 10 días	Tiempo Acelerado: 20 días	Tiempo Acelerado: 30 días	Unidades
Aerobios Mesófilos	BAM-FDA CAP. #3 2001 (Recuento en placa)	<10	<10	<10	<10	UFC/g
Coliformes totales	BAM-FDA CAP. #3 2001 (Recuento en placas)	<10	<10	<10	<10	UFC/g
Hongos	INEN 1529-10 1998 (Recuento en placa)	<10	<10	<10	<10	UFC/g
Levaduras		<10	<10	<10	<10	UFC/g
Observaciones:						
1. Los resultados emitidos en este informe corresponden únicamente a la(s) muestra(s) recibidas por el laboratorio. No siendo extensivo a cualquier lote.						
2. Este reporte no debe ser reproducido parcial o totalmente, excepto con la aprobación escrita por parte del laboratorio.						
3. Nomenclatura: N.D. = No Detectable; N.A. = No aplica						
4. <10 Ausencia de crecimiento en la menor dilución empleada.						
5. La información relacionada con la toma de muestra fue proporcionada por el cliente. El Laboratorio no se responsabiliza de la veracidad de la información que ha sido proporcionada por el cliente y que puede afectar directamente a la validez de los resultados						

FOR ADM. 04 R01

Página 1 de 1



Av. Carlos L. Plaza Dávalos, Cdo. La PAZ, Mo. 20 solar 12 (Frente al primer bloque de la Atarazana)
 Constituyente 04 2288 578 / 04 6017 745 Celular: 09 9273 7590 / 09 8478 0671
 Email: info@analytical-lab.com
 Guayaquil - Ecuador

www.uba-lab.com

