UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS

CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA

TEMA

"ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA REFRESCANTE FERMENTANDO LA SIMBIOSIS KOMBUCHA CON EL OBJETO DE MEJORAR LA CALIDAD DE VIDA DE LOS CONSUMIDORES DE BEBIDAS NO ALCOHÓLICAS"

Proyecto de Trabajo de Investigación (Graduación). Modalidad: Seminario de Graduación. Presentado como Requisito Previo a la obtención del Título de Ingeniero Bioquímico, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

AUTOR:

Egdo. Francisco Javier Vargas Mora

TUTOR:

Dr. José Homero Vargas López. M.Sc

AMBATO - ECUADOR

2011

Dr. José Homero Vargas López. M.Sc

TUTOR DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

CERTIFICA:

Que el presente Trabajo de Investigación: **"ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA REFRESCANTE FERMENTANDO LA SIMBIOSIS KOMBUCHA CON EL OBJETO DE MEJORAR LA CALIDAD DE VIDA DE LOS CONSUMIDORES DE BEBIDAS NO ALCOHÓLICAS",** desarrollada por. Francisco Javier Vargas Mora; observa las orientaciones metodológicas de la Investigación Científica.

Que ha sido dirigida en todas sus partes, cumpliendo con las disposiciones en la Universidad Técnica de Ambato, a través del Seminario de Graduación.

Por lo expuesto:

Autorizo su presentación ante los organismos competentes para la respectiva calificación.

Ambato, junio 2011

_____

Dr. José Homero Vargas López. M.Sc

TUTOR DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN

La responsabilidad del contenido del Trabajo de Investigación **"ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA REFRESCANTE FERMENTANDO LA SIMBIOSIS KOMBUCHA CON EL OBJETO DE MEJORAR LA CALIDAD DE VIDA DE LOS CONSUMIDORES DE BEBIDAS NO ALCOHÓLICAS"**, corresponde al Autor Egdo. Francisco Javier Vargas Mora y al Tutor Dr. José Homero Vargas López. M.Sc, y el patrimonio intelectual de la misma a la Universidad Técnica de Ambato.

Egdo. Francisco Javier Vargas Mora	**Dr. José Homero Vargas López. M.Sc**
Autor del Trabajo de Investigación	**Tutor Del Trabajo De Investigación**

A CONSEJO DIRECTIVO DE LA FCIAL

El Tribunal de Defensa del Trabajo de Investigación **"ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA REFRESCANTE FERMENTANDO LA SIMBIOSIS KOMBUCHA CON EL OBJETO DE MEJORAR LA CALIDAD DE VIDA DE LOS CONSUMIDORES DE BEBIDAS NO ALCOHÓLICAS"**, presentado por el Señor Francisco Javier Vargas Mora y conformada por: Ingeniero William Teneda e Ingeniera Ana Alfaro Miembros del Tribunal de Defensa y Tutor del Trabajo de Investigación Dr. José Homero Vargas López. M.Sc y presidido por el Ingeniero Romel Rivera, Presidente de Consejo Directivo, Ingeniera Mayra Paredes E., Coordinadora del Décimo Seminario de Graduación FCIAL-UTA, una vez escuchada la defensa oral y revisado el Trabajo de Investigación escrito en el cual se ha constatado el cumplimiento de las observaciones realizadas por el Tribunal de Defensa del Trabajo de Investigación, remite el presente Trabajo de Investigación para uso y custodia en la Biblioteca de la FCIAL.

_____
Ing. Romel Rivera
Presidente Consejo Directivo

_____
Ing. Mayra Paredes E.
Coordinadora Décimo Seminario de Graduación

_____
Ing. William Teneda
Miembro del Tribunal

_____
Ing. Ana Alfaro
Miembro del Tribunal

Dedicatoria.

A mis padres Pedro Pablo y Blanca Azucena, a la memoria de mi segundo padre mí abuelito Julio Mora; tres pilares fundamentales de mi vida.

A mi hijo Matías Julián alegría del sendero de mi vida, a mi esposa y compañera de jornada, Erika Estefanía.

¡Por Uds. y para Uds.!

Francisco Javier

Agradecimientos.

A Dios…

A la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. A la carrera de Ingeniería Bioquímica, templo de mi formación profesional.

A todas las personas que colaboraron de una u otra forma en la realización y culminación del presente proyecto.

Al Dr. Homero Vargas M.Sc., por su valiosa asesoría, orientación y apoyo en la realización de este proyecto.

Francisco Javier

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

Página.

CAPÍTULO I 1

EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN 1

1.1 TEMA DE INVESTIGACIÓN 1

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 1

1.2.1 Contextualización 1

1.2.2 Análisis crítico 3

1.2.3 Prognosis 4

1.2.4 Formulación del problema 4

1.2.5 Preguntas directrices 5

1.2.6 Delimitación 5

1.3 JUSTIFICACIÓN 6

1.4 OBJETIVOS 7

1.4.1 Objetivo General 7

1.4.2 Objetivos Específicos 7

CAPÍTULO II 8

MARCO TEÓRICO 8

2.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS. 8

2.2 FUNDAMENTACIÓN FILOSÓFICA 13

2.3 FUNDAMENTACIÓN LEGAL 13

2.4 CATEGORÍAS FUNDAMENTALES 14

2.5 HIPÓTESIS 14

2.5.1 Diseño experimental. 15

2.6 SEÑALAMIENTO DE VARIABLES DE LA HIPÓTESIS 15

CAPÍTULO III 16
METODOLOGÍA 16
3.1 ENFOQUE 16
3.2 MODALIDAD BÁSICA DE LA INVESTIGACIÓN 16
3.3 NIVEL O TIPO DE INVESTIGACIÓN 16
3.4 POBLACIÓN Y MUESTRA 16
3.5 OPERACIONALIZACION DE VARIABLES 17
3.6 RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN 18
3.7 PROCEDIMIENTO Y ANÁLISIS 18
3.7.1 Propagación de las películas simbióticas de “kombucha” 18
3.7.2 Determinación de los tratamientos para la fermentación 19
3.7.3 Evaluación estadística de los tratamientos 23
CAPÍTULO IV 25
ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS 25
4.1 ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS 25
4.1.1 Sólidos solubles [ºBrix] y pH de la fermentación. 25
4.1.2 Variación de sólidos solubles [ºBrix] en el tiempo. 25
4.1.3 Variación de pH en el tiempo 27
4.1.4 Acidez a las 209 y 280,25 horas de fermentación 29
4.1.5 Pesos de la simbiosis “kombucha”. 29
4.1.6 Calificaciones de sabor, olor, acidez y dulzor. 30
4.2 INTERPRETACIÓN DE DATOS. 30
4.2.4 Análisis factorial de sólidos solubles [ºBrix] 30
4.2.5 Análisis factorial del pH 31
4.2.6 Análisis factorial del acidez 31
4.2.7 Análisis del sabor 32

4.2.8 Análisis del olor....32
4.2.9 Análisis de la acidez....32
4.2.10 Análisis por bloques del dulzor....33
4.3 VERIFICACIÓN DE HIPÓTESIS....33
CAPÍTULO V....34
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES....34
5.1 CONCLUSIONES....34
5.2 RECOMENDACIONES....35
CAPÍTULO VI....36
PROPUESTA....36
6.1 DATOS INFORMATIVOS....36
6.2 ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA....36
6.3 JUSTIFICACIÓN....37
6.4 OBJETIVOS....38
6.4.1 Objetivo general....38
6.4.2 Objetivos específicos....38
6.5 ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD....39
6.6 FUNDAMENTACIÓN....40
6.7 METODOLOGÍA. MODELO OPERATIVO....41
6.8 ADMINISTRACIÓN....42
6.9 PREVISIÓN DE LA EVALUACIÓN....43
MATERIALES DE REFERENCIA....44
1. BIBLIOGRAFÍA....44
2. INTERNET....45
3. ANEXOS....47

ANEXO A 48

RESPUESTAS EXPERIMENTALES (TABLAS) 48

Tabla No.1: Registro de los º Brix de los tratamientos del 2 al 4 de Febrero del 2011……. 49

Tabla No.2: Registro de los º Brix de los tratamientos del 5 al 8 de Febrero del 2011…….. 49

Tabla No.3: Registro de los º Brix de los tratamientos del 9 al 11 de Febrero del 2011……. 50

Tabla No.4: Registro de los º Brix de los tratamientos del 12 al 16 de Febrero del 2011……. 50

Tabla No.5: Registro de los º Brix de los tratamientos del 18 de Febrero del 2011……. 50

Tabla No.6: Registro del pH de los tratamientos del 3 al 5 de Febrero del 2011……..... 51

Tabla No.7: Registro del pH de los tratamientos del 7 al 9 de Febrero del 2011……. 51

Tabla No.8: Registro del pH de los tratamientos del 10 al 12 de Febrero del 2011…….. 51

Tabla No.9: Registro del pH de los tratamientos del 14 al 18 de Febrero del 2011…….. 52

Tabla No.10: Registro del acidez en ml de NaOH 0,1N gastado por 10 ml de muestra, al noveno día de fermentación. 52

Tabla No.11: Registro del acidez en ml de NaOH 0,1N gastado por 10 ml de muestra, al doceavo día de fermentación. 52

Tabla No.12: Registro del grado alcohólico [ºGL] al final de la fermentación... 53

Tabla No.13: Registro de los pesos [g] de la simbiosis “kombucha” inoculada a tiempo 0 horas..... 53

Tabla No.14: Registro de los pesos [g] de la simbiosis “kombucha” al final de la fermentación a tiempo 381,25 horas. 53

Tabla No.15: Datos registrados de las calificaciones de sabor, olor, acidez y dulzor…….....54

Tabla No.16: Registro de pH de la bebida durante 14 días después de la pasteurización. 55

Tabla No.17: Registro de sólidos solubles [ºBrix] de la bebida durante 14 días después de la pasteurización.....55

ANEXO B 56

GRÁFICOS 56

Gráfico No.1: Reducción de los sólidos solubles [ºBrix] de las medias de los tratamientos a1b1, preparado con: Sacarosa (100g/l) + 2 g/l de té.....57

Gráfico No.2: Reducción de los sólidos solubles [ºBrix] de las medias de los tratamientos a1b2, preparado con: Sacarosa (100g/l) + 6 g/l de té.....57

Gráfico No.3: Reducción de los sólidos solubles [ºBrix] de las medias de los tratamientos a2b1, preparado con: sacarosa (50g/l) + miel de abeja (50 g/l) + 2 g/l de té…….....58

Gráfico No.4: Reducción de los sólidos solubles [ºBrix] de las medias de los tratamientos a2b2, preparado con: sacarosa (50g/l) + miel de abeja (50 g/l) + 6 g/l de té…….....58

Gráfico No.5: Reducción de los sólidos solubles [ºBrix] de las medias de los tratamientos: a1b1, a1b2, a2b1, a2b2.....59

Gráfico No.6: Reducción de pH de las medias de los tratamientos a1b1, preparado con: Sacarosa (100g/l) + 2 g/l de té.....60

Gráfico No.7: Reducción de pH de las medias de los tratamientos a1b2, preparado con: Sacarosa (100g/l) + 6 g/l de té.....60

Gráfico No.8: Reducción de pH de las medias de los tratamientos a2b1, preparado con: sacarosa (50g/l) + miel de abeja (50 g/l) + 2 g/l de té.....61

Gráfico No.9: Reducción de pH de las medias de los tratamientos a2b2, , preparado con: sacarosa (50g/l) + miel de abeja (50 g/l) + 6 g/l de té.....61

Gráfico No.10: Reducción de pH de las medias de los tratamientos: a1b1, a1b2, a2b1, a2b2.....62

ANEXO C 63

FICHA TÉCNICA DE ANÁLISIS SENSORIAL.....63

ANEXO D 65

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS 65

Análisis No.1: Análisis factorial de sólidos solubles [ºBrix], a las 209 horas de fermentación. 66

Análisis No.2: Análisis factorial de pH, a las 209 horas de fermentación. 67

Análisis No.3: Análisis factorial del acidez, a las 209 horas de fermentación. ...67

Análisis No.4: Análisis por bloques del sabor de los tratamientos en estudio. ...68

Análisis No.5: Análisis por bloques del olor de los tratamientos en estudio. 69

Análisis No.6: Análisis por bloques del acidez de los tratamientos en estudio...69

Análisis No.7: Análisis por bloques del dulzor de los tratamientos en estudio...70

ANEXO E.....71

IMÁGENES.....71

IMÁGENES DEL TRANSCURSO DE LA INVESTIGACION. 72

Imagen No.1: Propagación en medio líquido con receta estándar, de la simbiosis necesaria para la investigación. 72

Imagen No.2: Simbiosis “kombucha” propagas. 72

Imagen No.3: Capuchón de lienzo que permite el venteamiento de la fermentación 72

Imagen No.3: Almacenamiento de las simbiosis propagadas. 73

Imagen No.4: Olla esmaltada apta para la preparación del caldo de cultivo. 73

Imágenes No.5 y 6: Pesado de los ingredientes de los tratamientos.....74

Imagen No.8: Establecimiento del experimento en Laboratorio De Análisis De Alimentos FCIAL 74

Imagen No.9: Brixómetro utilizado en la investigación. 74

Imagen No.10: Midiendo sólidos solubles de los tratamientos. 75

Imagen No.11: Midiendo pH de los tratamientos.....75

Imagen No.12 y 13: Midiendo acidez de los tratamientos. 75

Imagen No.14: Midiendo grados alcohólicos de los tratamientos.....76

Imagen No.15: Tamización de la bebida fermentada previo a la pasteurización.…….....76

Imagen No.16: Etiqueta del envase del producto. 76

Imagen No.17: Producto envasado. 77

ANEXO F.....78

NORMAS.....78

CUADROS

Cuadro No.1: Relación Causa - Efecto……..3

Cuadro No. 2: Organizador lógico de variables……..14

Cuadro No. 3: Variable Independiente……...17

Cuadro No. 4: Variable Dependiente……..17

Cuadro No. 5: Factor A, tipos de sustratos azucarados……...19

Cuadro No. 6: Factor B, concentración de té negro…….....19

Cuadro No. 7: Tratamientos a Investigar…….20

Cuadro No. 8: Formato de tabla de reporte de respuestas experimentales……..23

Cuadro No. 9: Costos de producción de la bebida.……...39

Cuadro No. 10: Modelo operativo……..42

Cuadro No. 11: Administración de la propuesta……..42

Cuadro No. 12: Previsión de la evaluación……..43

RESUMEN EJECUTIVO

La presente investigación fue necesaria, debido a que, actualmente, el mercado de bebidas refrescantes está invadido de productos artificiales, los que por su continuo consumo ocasionan problemas gastrointestinales. La alternativa que presenta la investigación es una bebida natural a base del fermento de la simbiosis kombucha, a la que se le atribuye propiedades curativas y preventivas para un amplia variedad de enfermedades del ser humano, por contener un alto contenido de vitaminas, minerales, pequeñas cantidades de antibióticos, pro bióticos, enzimas digestivas, y ácidos orgánicos.

En la investigación se consideraron dos factores: factor A tipo de sustrato azucarado, y factor B concentración de té. Los niveles del factor A estuvieron compuestos por: (a1) sacarosa 100g/l, y (a2) sacarosa 50 g/l + miel de abeja 50g/l, y los niveles del factor B estuvieron compuestos por (b1) 2 g/l de té y el factor (b2) compuesto por 6 g/l de té. Para cada combinación de tratamiento se trabajó con tres replicas, a las que se les midió características fisco – químicas como pH y sólidos solubles [ºBrix] durante las 280,25 horas de fermentación, acidez titulable a las 209 y 280,25 horas. El tiempo de fermentación usado se basó en Agencia vigía, 2010, debido a que la bebida esta apta para su consumo en un rango de tiempo de fermentación de 216 y 288 horas aproximadamente.

El mejor tratamiento determinado físico - químicamente y organolépticamente catado por 15 catadores no entrenados fue el a1b1 preparado con 100 g/l de sacarosa + 2 g/l de té. Las características físico - químicas finales a las 280,25 horas de fermentación del mejor tratamiento fueron: pH =3,03; sólidos solubles = 11,7 ºBrix, acidez titulable 3,96 ml de NaOH 0,1 N gastados por 10 ml de muestra.

Los tratamientos endulzados con la mezcla de partes iguales de miel y sacarosa tuvieron características físico – químicas y organolépticas no aceptables para la bebida, destacando que presentaron rangos bajos de pH, sólidos solubles y altos de acidez, por lo cual la fermentación con miel sería ideal para considerar, en investigaciones posteriores, la elaboración de vinagre de kombucha.

INTRODUCCIÓN

Kombucha es una simbiosis de microorganismos como levaduras y bacterias que conviven en armonía en un medio líquido de sustratos azucarados y té. Convirtiéndose luego de la fermentación en un remedio natural que ha sido consumido por los chinos desde tiempos inmemoriales.

Actualmente, la humanidad está subsistiendo en un medio ambiente contaminado, por lo que es necesario consumir productos desintoxicantes, que eliminen toxinas adquiridas del ambiente. Según Rubio, 2007; Kombucha, mediante investigaciones en Rusia, Suecia y Alemania, fue presentada como alternativa natural de desintoxicación del organismo; a más de brindar beneficios al sistema inmunológico y ayudar a sobrellevar enfermedades terminales como el cáncer.

Los metabolitos producidos por la simbiosis a lo largo de la fermentación le dan el sabor característico a la bebida a más de que al ser consumidos no provocan efectos adversos y pueden ser ingeridos por cualquier persona, siempre y cuando se haya realizado un correcto manejo de inocuidad durante la fermentación.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 TEMA DE INVESTIGACIÓN

"ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA REFRESCANTE FERMENTANDO LA SIMBIOSIS "KOMBUCHA" CON EL OBJETO DE MEJORAR LA CALIDAD DE VIDA DE LOS CONSUMIDORES DE BEBIDAS NO ALCOHÓLICAS"

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.2.1 Contextualización

Contexto Macro

Según Atencio, 2005**,** la "kombucha" es una mezcla de líquenes, bacterias, enzimas y levaduras naturales, el té de "kombucha" es un fermento que, desde hace siglos, sorprende por sus propiedades revitalizadoras. Su uso está extendido en Asia y en los últimos años irrumpió en Europa y América.

Aunque es difícil determinar cómo apareció la "kombucha" en el mundo, una versión asegura que fue un médico coreano quien descubrió el brebaje y lo difundió por los países asiáticos. Lo cierto es que "kombucha" es un vocablo que explica a la perfección de que se trata: "kambu" significa en japonés "hongo"; "cha" se traduce como té. Se cree que "kombucha" es originario de Manchuria, donde es consumido hace más de 3000 años.

Varios médicos y universidades han estudiado a la "kombucha" en los últimos años. En general, todos ellos avalan sus beneficios en lo que respecta a la regulación

intestinal, el mejoramiento del reuma, la cura de enfermedades de la piel y el regeneramiento celular.

Contexto Meso

Palate, 2009, dice: “Las bebidas en la industria ecuatoriana se ha incrementado en los últimos años con una gran variedad de sabores, especialmente elaborados por industrias que se encuentran en el mercado por largo tiempo”.

Según Carrillo, 2009; INEC; a nivel nacional el consumo de alimentos y bebidas no alcohólicas representa el 27,8% del gasto de consumo de los hogares. En el área rural el consumo en este rubro tiene mayor representatividad que en el área urbana (38,53% vs. 24,97%). La participación del consumo de alimentos está estrechamente vinculada con el nivel de renta del hogar, es de esperarse por lo tanto que los hogares de menores ingresos destinen una mayor cantidad proporcional de su presupuesto familiar al consumo de esta categoría de productos.

En la investigación bibliográfica sobre bebidas fermentadas de kombucha, no existen registros de investigaciones preliminares, acerca de la producción de bebidas refrescantes no alcohólicas a partir de fermentos microbiológicos.

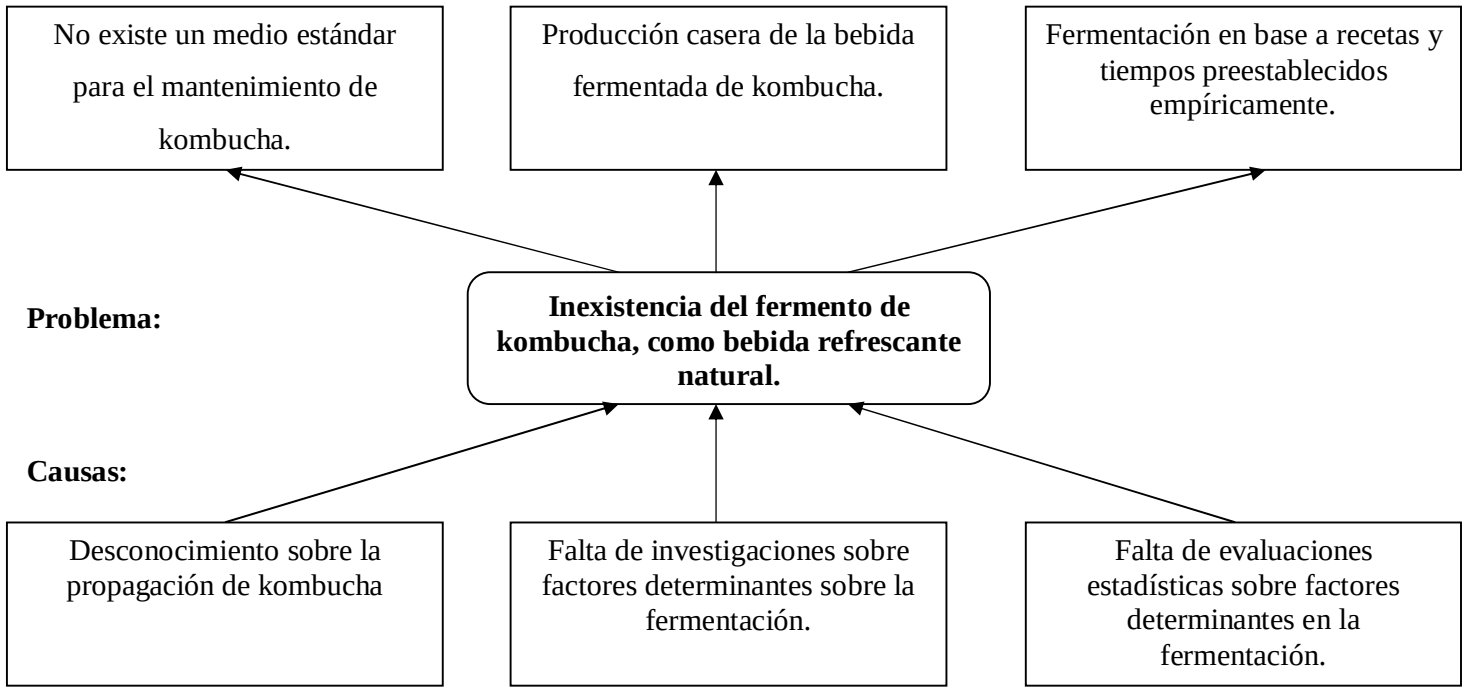
Contexto Micro

Según Palate, 2009, Las pequeñas industrias han empezado a elaborar bebidas artificiales abarcando un 20% del mercado local, con un déficit en los procesos tecnológicos teniendo como resultado una bebida con características no muy atractivas para el consumidor, razón por la cual las grandes industrias siguen siendo líderes en el mercado en cuanto a la innovación y mejora en los procesos tecnológicos.

En la ciudad de Ambato y particularmente en la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, no existen investigaciones respecto a la fermentación de kombucha, es así que esta investigación es la primera en la ciudad y país que se desarrollará.

1.2.2 Análisis crítico

Efectos:



Cuadro No. 1: Relación Causa – Efecto
Elaborado por: Francisco Vargas

Relación Causa-efecto

En el país el desconocimiento sobre la propagación de kombucha es causa de la inexistencia del fermento de kombucha como bebida refrescante natural, por lo que no se ha investigado sobre un medio estándar para el mantenimiento de kombucha.

La falta de investigación sobre los factores determinantes en la fermentación ha ocasionado como efecto que actualmente la única producción de la bebida de kombucha sea a nivel casero por quienes poseen la simbiosis.

La falta de evaluaciones estadísticas sobre factores determinantes en la fermentación ha ocasionado como efecto que actualmente la fermentación de kombucha sea realizada en base a recetas y tiempos preestablecidos empíricamente.

1.2.3 Prognosis

Al no investigar sobre la elaboración de una bebida refrescante a partir de la fermentación de la simbiosis "kombucha", se seguirá desperdiciando un recurso biotecnológico potencial al que se le atribuyen propiedades preventivas y curativas para el ser humano, por el contenido de vitaminas, ácidos orgánicos, enzimas y azúcares en la bebida.

Al no presentar una alternativa en bebidas naturales se continuarán consumiendo bebidas artificiales con productos químicos dañinos para la salud, de existir una bebida natural se preservará la salud de los consumidores al mostrar un producto de la fermentación simbiótica de microorganismos benéficos.

1.2.4 Formulación del problema

Frente a la inexistencia del fermento de kombucha como bebida refrescante natural, es un problema que se resolverá mediante la presente investigación, la que plantea investigar la funcionalidad de un medio líquido para la propagación de la simbiosis, además, se investigará sobre la influencia de factores determinantes en la

investigación como son tipo de sustrato azucarado y concentración adecuada de té para la producción de la bebida, factores que serán evaluados estadísticamente utilizando el paquete estadístico InfoStat/l.

Al resolver el problema con la presente investigación se podrá contar con un medio líquido adecuado para la propagación de la simbiosis kombucha, el tipo y concentración de sustrato azucarado idóneo para la producción de la bebida.

1.2.5 Preguntas directrices

¿En la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos se han propagado en medios líquidos las películas simbióticas de "kombucha" necesarios para una investigación?

¿En la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos se han determinado tratamientos para la fermentación de "kombucha" en base a factores en estudio?

¿En la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos se ha evaluado estadísticamente los mejores tratamientos para la obtención de una bebida fermentada de "kombucha"?

1.2.6 Delimitación

Campo: Ingeniería Bioquímica**.**
Área: Fermentaciones
Aspecto: Bebidas
Delimitación Temporal: diciembre 2010 a marzo 2011
Delimitación espacial: Laboratorios de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

1.3 JUSTIFICACIÓN

Las principales industrias dedicadas a la producción de bebidas refrescantes en el país centran la actividad industrial en producir bebidas artificiales, las que resultan perjudiciales para la salud de los consumidores, es por ello, el interés de investigar la elaboración de una bebida refrescante, saludable y natural a partir de la simbiosis "kombucha", la que ha demostrado ser beneficiosa para el ser humano por producir, durante la fermentación, metabolitos como: vitaminas, enzimas, ácidos orgánicos y bajas concentraciones de alcohol.

La bebida fermentada a partir de la simbiosis "kombucha" al ser cien por ciento natural, se vende como producto elaborado en Japón, Rusia, Estados Unidos y en ciertos países de Europa, donde tiene muy buena acogida, pero en Ecuador, de momento no existe empresa alguna dedicada a la producción y comercialización de la bebida, siendo únicamente elaborada de manera doméstica por un número limitado de personas conocedoras de los beneficios de la simbiosis.

Hoy en día el consumidor está experimentando un regreso a las formas de alimentación naturales y orgánicas, alejándose de los productos artificiales, dañinos para la salud. Ésta es una de las razones del gran atractivo y fascinación que presenta esta bebida en el mercado, al ser "kombucha" una simbiosis de levaduras y bacterias acéticas, mismas que se han utilizado desde épocas antiguas por varias culturas del mundo para la creación de bebidas fermentadas y alimentos que han promovido la salud de quien los consuma.

La elaboración de la bebida conlleva a utilizar sustratos sencillos de bajo costo y fáciles de conseguir como azúcar, miel y té negro, la temperatura de fermentación está comprendida en promedio 15ºC en Ambato, por lo que resulta un producto fácil de obtener por los bajos requerimientos que demanda la fermentación.

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 Objetivo General.

Elaborar una bebida refrescante fermentando la simbiosis “kombucha” con el objeto de mejorar la calidad de vida de los consumidores de bebidas no alcohólicas.

1.4.2 Objetivos Específicos.

- Propagar en medio líquido las películas simbióticas de “kombucha” necesarias para la investigación.

- Determinar los tratamientos para la fermentación en base a factores en estudio dentro de la investigación.

- Evaluar estadísticamente los mejores tratamientos en base a los factores en estudio dentro de la investigación.

- Determinar el costo de producción de la bebida del fermento de kombucha, utilizando como sustratos en medio líquido sacarosa 100 g/l y té 2 g/l.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

Según Woodroof, 1981, la industria de las bebidas se compone de dos grupos principales: la categoría de las bebidas sin alcohol que encierra a la fabricación de jarabes, el embotellado de agua y bebidas refrescantes, envasado de zumos de frutas, las industrias del café, la leche y el té; y la categoría de las bebidas alcohólicas que incluye a los licores destilados, el vino y la cerveza. Aunque muchas de estas bebidas, incluidos la cerveza, el vino y el té, han existido desde hace miles de años, su industria se ha desarrollado en forma significativa en los últimos siglos.

Según Rubio**,** 2007**,** "kombucha" es un remedio natural que se puede valorar como extraordinario en la medida que apuntan sus componentes como vitaminas, enzimas, ácidos orgánicos, y que acreditan miles de años de uso por culturas ancestrales como la China, donde siempre ha sido utilizado como un gran refuerzo a su medicina tradicional.

Las sustancias activas de la "kombucha" se dirigen a todo el sistema corporal a través de sus propiedades metabólicas amistosas, que pueden restablecer una condición normal en las membranas celulares sin ningún efecto secundario, por lo tanto promueven el bienestar.

Aunque la palabra hongo se usa en todos los informes, no tiene las características ni el patrón de crecimiento de un hongo. En realidad, es una colonia simbiótica de bacterias y levaduras. Este cultivo viviente, se reproduce durante el proceso de fermentación, dando lugar a otro cultivo, al cual se le refiere normalmente, como cultivo hijo. El cultivo tiene la apariencia de una masa gelatinosa, similar en alguna forma a un panqueque o esponja y de un color grisáceo.

Según Michael**,** 2005**,** los aislamientos típicos de microorganismos que se han encontrado en el té de "kombucha" son *Acetobacter xylinum, Acetobacter xylinoides, Acetobacter ketogenum, Saccharomycodes ludwigii, Saccharomycodes apiculatus, Schizosaccharomyces pombe, Zygosaccharomyces, y Saccharomyces cerevisiae*.

Según Rubio, 2007, "kombucha" vive en una solución nutriente de té y azúcar, dentro de la cual se multiplica permanentemente a través de la germinación. El disco fúngico al principio se expande sobre toda la superficie del té, y luego comienza a engrosarse. Si uno trata al hongo en forma correcta, éste germina y se reproduce, y con el cuidado apropiado, puede acompañarlo toda su vida.

Durante la fermentación y procesos de oxidación, el hongo se alimenta del azúcar en el té, y a cambio, como si fuese una diminuta fábrica bioquímica, produce otras sustancias, las cuales se dice son las que le brindan el valor al té: ácido Glucurónico, ácido L-Láctico, vitaminas, aminoácidos, sustancias antibióticas y otros productos.

¿Qué es la "kombucha"?

Según Agencia el Vigía, 2010; La "kombucha" es una simbiosis (relación viviente) de tres microorganismos benéficos: la bacteria del ácido acético (*Acetobácter xylinum*) y dos levaduras especiales: la *Zygosaccharomyces rouxii* y la *Candida sp*.). Viven en una solución nutriente de té azucarado, en el que se multiplican constantemente por medio de la germinación. La incorrecta designación de hongo se debe a que el cultivo sintetiza un disco gelatinoso flotante que se difunde por toda la superficie del té y luego de varios días empieza a engrosarse.

Historia

Según Agencia el Vigía, 2010; se cree que la "kombucha" es originaria de Manchuria, donde es consumida desde hace más de 3000 años.

En la antigua China y en Japón era una costumbre familiar darles a los novios un cultivo nuevo de “kombucha”. La mujer reproducía este cultivo a lo largo de todo su matrimonio y luego se lo pasaba a su propia hija. Ellos decían que cuando una persona recibe su primera “kombucha” recibe también la última.

Ninguna “kombucha” es nueva o recién nacida, sino que es un cultivo producido a partir de una “kombucha” madre anterior. Tenga en cuenta que el cultivo vivo que ha llegado a sus manos tiene miles de años de antigüedad, ha pasado por muchísimas generaciones de familias. Viajando desde China, Corea, Japón y la India pasó a través de Rusia hasta Europa Oriental (a principios del s. XIX) y de allí a principios del siglo pasado llegó al norte de África, Estados Unidos y América del Sur.

Debido a sus viajes se la conoce con varios nombres: “kombucha” (que es la forma alemana del nombre japonés utilizada internacionalmente), combucha, komboocha, mushroom-tea ('te-hongo' en inglés), Manchurian mushroom ('hongo de Manchuria'), Manchurian tea ('té manchuriano'), tea-kwass, teakvass, kargasok (en ruso) y otros.

Unos dicen que kom-bu-cha signfica 'té como vino' (pu: 'vino', chá: 'té') y otros 'esponja de té'.

Preparación de la “kombucha”.

Ingredientes: Según Agencia el Vigía, 2010.

- 2 litros (8 tazas) de agua.
- 1 taza de azúcar blanca (o mejor rubia).
- 2 saquitos (o 4 cucharaditas) de té verde, negro o de hierbas.
- 1 “kombucha” madre ("hongo") sana.
- 1 taza de jugo fermentado de “kombucha” (el "té").
- Frascos limpios de vidrio, acero inoxidable, porcelana, cerámica o plástico
- Tela (una gasa, un repasador o una media de mujer) para cubrir la boca de los recipientes, evitando que el cultivo se contamine pero sin impedir la respiración de la “kombucha”. Durante el proceso de cultivo la “kombucha” debe respirar (absorbe oxígeno y elimina dióxido de carbono).

Cultivo

Según Agencia el Vigía, 2010; Ponga en una olla al fuego los 2 litros de agua con la taza de azúcar. Al romper el hervor apague el fuego y ponga los dos saquitos de té. Cuando luego de varias horas esté frío quite los saquitos de té (o cuele la infusión si utilizó té en hebras). Vuelque esta infusión en el frasco. Eche también el vaso del jugo de “kombucha” anterior y la “kombucha” madre (el "hongo"). Cubra la boca del frasco con la tela. Deje descansar en un sitio oscuro entre 10 y 12 días.

Durante este período se llevan a cabo los procesos metabólicos, biológicos y químicos que producen una pequeña cantidad de alcohol (0,5 %, como la que está presente en una cerveza "sin alcohol" y otras bebidas, incluyendo el jugo de manzana). También contiene una pequeña cantidad de azúcar que no se descompone. Mientras más días se fermente la bebida, habrá menos cantidad de azúcar y más cantidad de alcohol. Si se deja fermentar más de 12 días, a su vez el alcohol se convertirá en vinagre.

Período de cultivo y fermento:

Según Rubio**,** 2007**;** el tiempo necesario para obtener una buena madre de “kombucha” es de al menos 12 días a una temperatura ambiente de alrededor de 23ºC, tiempo en el cual el té de “kombucha” se tornará bastante ácido para el gusto de la mayoría de occidentales acostumbrados al abuso del dulce. Sin embargo es esta acidez la que hace de esta bebida una poción medicinal tan eficaz dado que se han formado bien los ácidos terapéuticos específicos de este remedio. Si esto se hace así en cada tanda del cultivo se obtienen tanto un buen cultivo como una buena bebida medicinal. Mientras que si lo hacemos en 7 días obtenemos una bebida parecida a sidra al paladearse todavía algo dulce y el cultivo puede quedar todavía algo flojo, si bien en ocasiones este reflota en la siguiente tanda engrosándose sin problemas, al acortar el ciclo el desarrollo de las bacterias se reduce mientras las levaduras son fermentadas y a la larga el cultivo se debilita. Una manera de evitar esto si lo que se prefiere es una bebida de alrededor de 7 días todavía algo dulce es hacer el cultivo por un lado y la bebida por otro en recipientes distintos.

El tiempo de fermentación estará influenciado por la temperatura y la cantidad de cultivo utilizado para los ingredientes relatados así como la forma del recipiente. Recordemos que una buena oxigenación sobre el cultivo es fundamental, por lo que la bebida estará lista antes en un recipiente bajo y ancho que en uno alto y estrecho.

Vinagre

Según Rubio**,** 2007**;** hay gente que debido a su estado precario de salud no le interesa tomar azucares ni gas carbónico. En este caso la manera es modificar el té hasta que se haga vinagre. Además de esta manera si se toma el té con su ciclo completo de modificación a temperatura media de 20 a 25ºC durante 15 días, los compuestos beneficiosos sintetizados por el cultivo estarán en buenas proporciones. Una adecuada forma de empezar a habituarse a tomarlo es en los usos cotidianos del vinagre y con el tiempo empezar a tomarlo diluido en agua.

Si el té fermentado se deja con una madre de "kombucha" durante mucho tiempo (1 a 3 meses) se produce un vinagre muy bueno similar al de manzana.

Con la "kombucha" y zumo natural de manzana o de uva se prepara un vinagre exquisito para el uso habitual del vinagre común. La madre de "kombucha" usada para este fin, no debería volver a reutilizarse para el cultivo habitual de "kombucha", ya que la formulación de microorganismos puede variar bastante.

Otros edulcorantes

Según Rubio**,** 2007**;** la miel es en cierto grado bactericida y contiene muchas enzimas fermentativas, y tendremos un efecto parecido al del propio cultivo de "kombucha" que discrimina tipos dañinos de microorganismos en favor de los benéficos y si es miel pura contiene su microflora amiga resistente que se agregará al cultivo de "kombucha" reequilibrándolo. En consecuencia usar miel o una mezcla de esta con azúcar es bastante adecuado al menos de vez en cuando para aportar biodiversidad.

Usaremos la miel si no importa el grado de ácidos terapéuticos que se quieren conseguir a corto plazo o si no importa el sabor agrio a medio plazo o ácido en una elaboración más larga ya que el ácido acético se produce en mayor cantidad.

Lo que si hace la miel es producir espuma que da aspecto de cerveza a la bebida y esta se podría añadir después de la elaboración normal para aumentar la carbonatación.

Actividad antimicrobiana de "kombucha"

Según Guttapadu, 2000, los efectos antimicrobianos del pH óptimo de la bebida comprendido entre 3,5 y 4,5 por la presencia del ácido acético, sugiere la presencia de compuestos antimicrobianos con excepción del ácido acético y proteínas de gran tamaño en "kombucha", que puede ser responsable de la actividad antimicrobiana de "kombucha". Otro estudio descartó que el ácido láctico, etanol, o taninos (como las que se encuentran en el té) que contribuyen a la actividad antimicrobiana de "kombucha". Además de beber té de "kombucha", las propiedades anti-inflamatorias del hongo "kombucha" se ha estudiado y es de uso frecuente en la medicina popular aplicado directamente a los cortes, quemaduras o abrasiones.

2.2 FUNDAMENTACIÓN FILOSÓFICA

El perfil de investigación científica tiene un fundamento de carácter académico científico con clara predisposición dialéctica, en la que predominan: el análisis la síntesis, la inducción y la deducción.

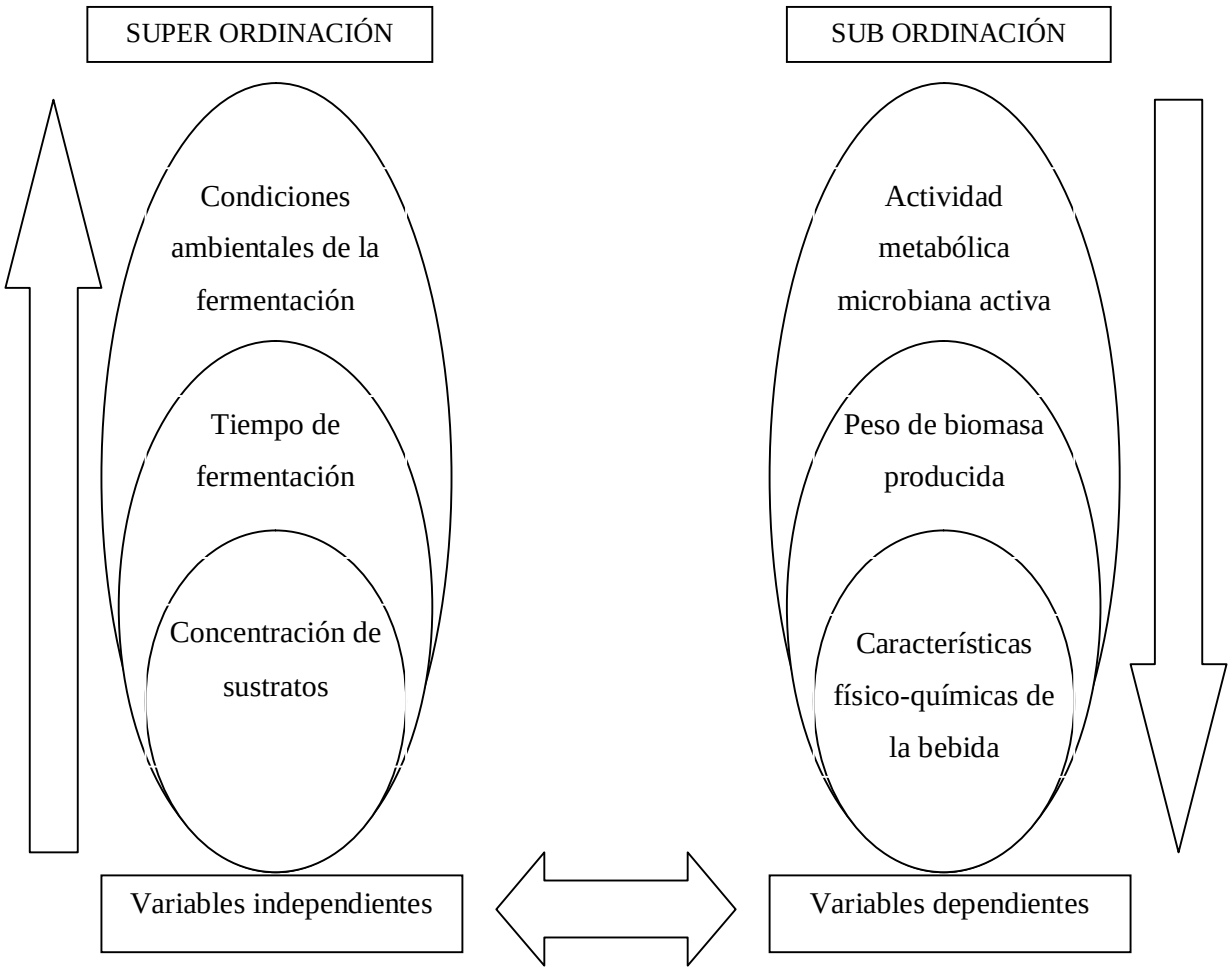
El análisis permite desglosar las partes del tema investigativo y someterlo al crisol de la ciencia. Es sintético por cuanto se abstrae el conocimiento para poder llegar a generalizaciones. Es inductivo porque vamos de lo particular a lo general en el proceso de investigación. Es deductivo por cuanto en algunas etapas de la investigación se han iniciado de lo general a lo particular.

2.3 FUNDAMENTACIÓN LEGAL

- Nmx-f-103-1982. Alimentos. Frutas y derivados. Determinación de Grados Brix. (Anexo F-1).
- Nmx-f-317-s-1978. Determinación de pH en alimentos. (Anexo F-2).

- Nmx-f-102-s-1978. Determinación de la acidez titulable en Productos elaborados a partir de frutas y hortalizas. (Anexo F-3).

2.4 CATEGORÍAS FUNDAMENTALES



Cuadro No. 2: Organizador lógico de variables.
Elaborado por: Francisco Vargas

2.5 HIPÓTESIS

Hi: la elaboración biotecnológica de una bebida refrescante se realiza fermentando la simbiosis "kombucha" en medio líquido con un sustrato de té, sacarosa y miel.

Ha: la fermentación de una bebida refrescante de "kombucha" se ve afectada por la utilización de sustratos de té, sacarosa y miel.

Ho: la fermentación de una bebida refrescante de "kombucha" no se ve afectada por la utilización de sustratos de té, sacarosa y miel.

2.5.1 Diseño experimental

Para la investigación para la obtención de la bebida se realizó un diseño factorial en arreglo A x B.

Los tratamientos resultan de la combinación de los 2 factores en estudio: tipos de sustratos azucarados con 2 niveles y concentración de té con 2 niveles, 2X2=4 tratamientos, con tres réplicas cada uno = 12 unidades experimentales.

2.6 SEÑALAMIENTO DE VARIABLES DE LA HIPÓTESIS

Para la elaboración biotecnológica de la bebida fermentada con la simbiosis "kombucha" se ha tomado en cuenta la concentración del sustrato como causa para la variación de las características físico-químicas de la bebida, debido a que a partir del sustrato los microorganismos simbiontes producirán metabólicamente diferentes ácidos orgánicos, vitaminas, antibióticos y carbohidratos, que intervienen en las características organolépticas del fermento.

El peso de biomasa de "kombucha" producida es dependiente del tiempo de fermentación, este peso una vez que todo el sustrato se ha consumido se mantendrá constante, cabe indicar que en los primeros 5 a 10 días el sustrato a ser consumido por las levaduras de la simbiosis son los azúcares para fermentar alcohol, después de los 10 días se producirá una fermentación acética por las aceto-bacterias presentes en la simbiosis.

La actividad metabólica microbiana de la simbiosis "kombucha" inicia una vez acondicionado al medio de cultivo adecuado y al rango de temperatura de 18ºC a 20ºC, condiciones que garantizarán una fermentación adecuada de la bebida.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1 ENFOQUE

La investigación fue cuantitativa, ya que se realizó análisis de laboratorio para determinar respuestas experimentales medibles durante la fermentación: tiempo de fermentación, pH, ºBrix, incremento de peso en la biomasa, estos resultados permitieron analizar estadísticamente los tratamientos para determinar los mejores tratamientos.

3.2 MODALIDAD BÁSICA DE LA INVESTIGACIÓN

El perfil de investigación tuvo un sustento bibliográfico documental y fue de campo. Fue bibliográfico porque se consultó libros, textos, revistas, folletos, internet. Fue documental porque se revisaron archivos y documentos que facilitaron el desarrollo de la investigación. Fue de campo porque el perfil se elaboró en el lugar en el cual se produce el objeto de estudio.

3.3 NIVEL O TIPO DE INVESTIGACIÓN

El perfil de investigación tuvo los siguientes niveles: Exploratorio, Descriptivo, Correlacional o Asociación de Variables. Fue Exploratorio porque permitió desarrollar temas nuevos o poco conocidos; fue Descriptivo porque desarrolló ampliamente criterios y contenidos; y fue Correlacional o de Asociación de Variables porque permite enfrentar a la variable independiente con la variable dependiente.

3.4 POBLACIÓN Y MUESTRA

- **Población:** 4 tratamientos (combinación entre factores) x 3 réplicas (mínimo estadístico) = 12 botellas plásticas con 3L de caldo de cultivo fermentado.

➢ **Muestra:** 50 ml de fermento a ser extraídos de cada botella para medir las respuestas experimentales.

3.5 OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

Variable Independiente

Cuadro No 3.- Concentración de sustratos.

Conceptualización	*Dimensiones*	*Indicadores*	*Ítems*	*Técnicas e instrumentos*
concentración de sustratos	g/l Azúcar blanca de caña g/l miel de abeja g/l Té negro	Tiempo de fermentación de la bebida	¿Los tipos de sustratos interfieren en el tiempo de fermentación de la bebida?	Cuantificación de tiempo con un Reloj

Elaborado por: Francisco Vargas

Variable Dependiente

Cuadro No 4.- Características físico-químicas de la bebida.

Conceptualización	*Dimensiones*	*Indicadores*	*Ítems*	*Técnicas e instrumentos*
Características físico-químicas de la bebida	pH Sólidos solubles [ºBrix] Peso de la "kombucha" [g]	pH, ºBrix, g de la "kombucha".	¿Las características físico químicas de la bebida varían durante la fermentación?	pH-metro, Brixómetro, balanza

Elaborado por: Francisco Vargas.

3.6 RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

Las técnicas utilizadas para la recolección de la información fueron la observación directa puesto que se mantuvo en contacto con el objeto de estudio en escenarios y ambientes debidamente preparados y equipados para realizar la investigación que llevó a la comprobación o rechazo de las hipótesis planteadas.

3.7 PROCEDIMIENTO Y ANÁLISIS

Para cumplir con los objetivos establecidos, la investigación se:

- Se propagó en medio líquido las películas simbióticas de "kombucha" necesarias para la investigación. (Anexo E, Imágenes.)
- Se determinó los tratamientos para la fermentación en base a los factores en estudio dentro de la investigación.
- Se evaluó estadísticamente los mejores tratamientos en base a los factores en estudio dentro de la investigación. (Anexo D, Análisis)

3.7.1 Propagación en medio líquido de las películas simbióticas de "kombucha" necesarias para la investigación.

Se preparó un medio de cultivo líquido estándar para la propagación de las películas simbióticas de "kombucha" necesaria para 12 unidades experimentales, el que contenía para 2 L de agua:

Azúcar	150 g/l
Té negro	10 g/l
Películas de "kombucha" (inóculo)	200 g/l = 1 película/botella

3.7.1.1 *Procedimiento.*

- Se preparó para 8 biorreactores (botellas plásticas de 5 L de capacidad), 2 L de caldo de cultivo por biorreactor con la concentración de los ingredientes de la receta estándar de propagación.

- Se inoculó 1 película de "kombucha" de aproximadamente 200 g por biorreactor.

- Se fermentó la bebida a temperatura ambiente en los biorreactores por 12 días hasta multiplicar la simbiosis.

3.7.2 Determinación los tratamientos para la fermentación en base a los factores en estudio dentro de la investigación.

3.7.2.1 *Factores en estudio.*

Para la preparación de los caldos de cultivo para obtener la bebida dentro de la investigación se realizó un diseño experimental con un arreglo factorial AxB, donde los factores fueron:

Factor A: *tipos sustratos azucarados.*

Cuadro No. 5: Factor A

Nivel	***Sustratos azucarados***
a_1	*Sacarosa (100 g/l)*
a_2	*Sacarosa (50 g/l) + miel de abeja (50 g/l)*

Elaborado por: Francisco Vargas

Factor B: *concentración de té negro a ser utilizado*

Cuadro No. 6: Factor B

Nivel	***Concentración de té negro (g/l)***
b_1	*2 g/l*
b_2	*6 g/l*

Elaborado por: Francisco Vargas

3.7.2.2 ***Tratamientos.***

Resultaron de la combinación de los 2 factores en estudio: tipos de sustratos azucarados con 2 niveles y concentración de té con 2 niveles, 2X2=4 tratamientos, con tres replicas cada uno = 12 unidades experimentales.

Cuadro No. 7: Tratamientos a investigar

Tipos de sustratos	**Concentración de té**	**Tratamientos**
a_1	b_1	$a_1\ b_1$
	b_2	$a_1\ b_2$
a_2	b_1	$a_2\ b_1$
	b_2	$a_2\ b_2$

Elaborado por: Francisco Vargas

3.7.2.3 ***Procedimiento.***

- Se preparó el caldo de cultivo en una olla esmaltada para 2L de agua en función del tratamiento y réplica correspondiente.

- Se fermentó la bebida a temperatura ambiente en botellas plásticas de 5L de volumen, hasta que el pH este en un rango de 3,5 – 4,5.

- Se midió como respuestas experimentales diarias a las siguientes variables:

a. Determinación de pH. (Anexo F-1)

- Se mezcló en las botellas contenedoras la bebida cuidadosamente hasta su homogeneización.

- Se calibró el potenciómetro ExStik® pH Meter con las soluciones reguladoras de: solución reguladora biphtaalate pH 4 rojo, y Panreac Tampón, Solución pH 7±0,02 (20ºC) (coloreada de amarillo).

- Se tomó en un vaso de precipitación de 50 ml una porción de la muestra ya preparada, se mezcló bien por medio de un agitador y se ajustó la temperatura a 20°C ± 0,5°C.

- Se sumergió él electrodo ExStik® pH Meter en la muestra de manera que lo cubra perfectamente.

- Se anotó la medición del pH. Se sacó el electrodo y se lo lava con agua destilada.

b. Determinación de los Sólidos solubles de la bebida. (Anexo F-2)

- Se colocó el refractómetro SPER SCIENTIFIC 300001, en una posición tal que difunda la luz natural o cualquier otra forma de luz artificial, que pueda utilizarse para iluminación. Se hizo circular agua a 293 K (20ºC) a través de los prismas. Se limpió cuidadosamente el refractómetro antes de hacer la lectura.

- Se colocó unas gotas de muestra sobre el prisma del refractómetro.

- Se tomó la lectura en ºBrix para todos los tratamientos.

Se midió como respuesta experimental al finalizar la fermentación:

c. Determinación del Acidez titulable.

- El producto se mezcló perfectamente para asegurar una muestra uniforme y se filtró a través de lienzo.

- Se calibra un potenciómetro con las soluciones tampón de pH 4 y pH 7.

- Se lavan varias veces los electrodos con agua, hasta que la lectura en agua recién hervida y enfriada sea aproximadamente de pH 6,0.
- Se tomó 10 ml de muestra ya filtrada.

- La muestra medida se transfirió a un vaso de precipitados de 400 ml y se diluyó aproximadamente a 50 ml con agua recién hervida, enfriada y neutralizada.

- Los electrodos perfectamente lavados se introducen en la muestra agitando con moderación se agregó rápidamente la solución 0,1N de hidróxido de sodio hasta alcanzar un pH cercano a 6,0, luego se continúa agregado lentamente la solución de hidróxido de sodio hasta alcanzar pH 7,0.

- Después de que se ha alcanzado el pH, se termina la titulación agregando el hidróxido de sodio en porciones de 4 gotas a la vez hasta lograr un pH 8,3; se anotó la lectura del pH y el volumen total de hidróxido de sodio gastado después de cada adición.

d. Peso de biomasa de la "kombucha":

- En una balanza SCIENTECH SA210, se tomó el peso fresco en gramos, para cada una de las repeticiones y se calculó la ganancia de peso en relación al inicial.

- Se clarificó mediante tamización en lienzo.

- Al final de la fermentación se añadió benzoato de sodio como preservante de la bebida.

3.7.3 Evaluación estadística de los mejores tratamientos en base a los factores en estudio dentro de la investigación.

- Se graficó para cada respuesta experimental; Tiempo de Fermentación [días] Vs respuesta experimental tomada a diario, con el fin de observar la variación de estos parámetros a lo largo de la fermentación.

- Se registró para cada tratamiento las respuestas experimentales tomadas durante y al final de la fermentación: pH, ºBrix, acidez titulable, grado alcohólico e incremento de biomasa.

Cuadro No.8: formato de tabla de reporte de las respuestas experimentales.

Tipos de sustratos	Concentración de té	Tratamientos	Replicas		
			R_1	R_2	R_3
a_1	b_1	$a_1 b_1$			
	b_2	$a_1 b_2$			
a_2	b_1	$a_2 b_1$			
	b_2	$a_2 b_2$			

Elaborado por: Francisco Vargas.

3.7.3.1 Evaluación estadística del mejor tratamiento para sólidos solubles [ºBrix], pH y acidez.

- Según Agencia el Vigía, 2010; el tiempo de fermentación de la bebida esta entre 10 a 12 días (240 a 288 horas) a temperatura ambiente, por lo que los datos de pH, sólidos solubles y acidez registrados de los tratamientos a las 209 ya presentan características fisicoquímicas de pH que bordean los 3,5 ya que según Gutapadu 2007, el pH óptimo está entre los 3,5 a 4,5 alcanzado en el tiempo propuesto por agencia el Vigía 2010, en la experimentación se tomaron los datos registrados a las 209 horas de fermentación, se utilizó el paquete estadístico InfoStat/l para determinar el análisis de varianza de los tratamientos y posteriormente, si los tratamientos son

altamente significativos o significativos se realizó la prueba de significación de Tukey al 1% y al 5% respectivamente.

3.7.3.2 Evaluación estadística del análisis sensorial de los tratamientos.

- Se realizó un documento de catación (Anexo C), para 15 catadores no entrenados, con las siguientes características a evaluar en la bebida: sabor, olor, acidez y dulzor.

- Con los datos obtenidos de las calificaciones de parte de los 15 catadores no entrenados, se utilizó el paquete estadístico InfoStat/l para determinar el análisis de varianza de los tratamientos para cada característica evaluada, posteriormente si son altamente significativos o significativos las calificaciones de los tratamientos se realizó la prueba de significación de Tukey al 1% y al 5% respectivamente.

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1 ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

4.1.1 Sólidos solubles [ºBrix] y pH de los tratamientos durante la fermentación. (Anexo A, Tablas: No.1, a la No.9)

Según los datos obtenidos en la investigación, la variación de sólidos solubles y pH, considerados como tiempo de fermentación de la bebida son desde 0 horas hasta 209 horas, bajo las condiciones ambientales de Ambato (15ºC, promedio), porque según Guttapadu S., 2000, el pH óptimo de la bebida es de 3,5 a 4,5, entonces considerando el tiempo propuesto por Agencia el vigía, 2010, de 10 a 12 días, en la investigación a las 209 horas (Anexo A, tabla No. 8) se registraron los datos más próximos en pH y tiempo citados en la bibliografía, determinando para el pH de los tratamiento valores entre 3,62 y 3,35 a las 209 horas de fermentación. Se tomó en cuenta el pH mínimo propuesto por Guttapadu S., 2000, debido a que si se considera el pH de 4,5, no se cumpliría con lo propuesto por Agencia el vigía, 2010, para el tiempo de fermentación, debido a que en la investigación el pH 4,5 alcanzado a 67,25 horas por los tratamientos es demasiado prematuro en tiempo de fermentación por lo que la bebida no tendría características organolépticas propias del fermento de kombucha. Por lo tanto los datos utilizados de sólidos solubles y pH en el análisis estadístico en InfoStat/l para la determinación del mejor tratamiento fueron los registrados a las 209 horas de fermentación.

4.1.2 Variación de sólidos solubles [ºBrix] en el tiempo de fermentación. (Anexo B, Gráficos No.1 al No. 5)

Al graficar los datos obtenidos de la variación de sólidos solubles [ºBrix] en el tiempo, se determinó que todos los tratamientos independientemente del sustrato que contenía al inicio de la fermentación se midió 12ºBrix aproximadamente, para los

tratamientos que contenían 100g/l de sacarosa, los sólidos solubles disminuyeron desde las 22 horas para el tratamiento a1b2 (sacarosa 100g/l + té 6g/l) y a las 233 horas de fermentación para el tratamiento a1b1(sacarosa 100g/l + té 2g/l), debido a que los microorganismos toman como nutriente al té durante este tiempo además de que la sacarosa es una sola molécula en comparación de los tratamientos del nivel a2 que contenían 50g/l de sacarosa + 50 g/l de miel de abeja en los que se observó una drástica disminución de los sólidos solubles a consecuencia de que la miel tiene varios compuestos los que son metabolizados y convertidos más rápidamente por los microorganismos integrantes de la simbiosis “kombucha”.

En el tratamiento a1b1 preparado con Sacarosa (100 g/l) + té (2 g/l) (Anexo B gráfico No. 1), se observó que después de trascurrido 233 horas de fermentación comienzan a disminuir los sólidos solubles de 12 ºBrix a 11,7 ºBrix , se demoró más que los otros tratamientos debido a que, este es el que menos sustratos tiene, tanto para el azúcar como para el té, por lo que en este tratamiento los microorganismos no tienen mucho sustrato para metabolizar, al inicio de la fermentación se registró del promedio de tres réplicas 12 ºBrix y a las 209 horas que se consideró como el tiempo de producción de la bebida se midió 12 ºBrix. Se determinó que hasta tiempo no varían los sólidos solubles, pero este análisis no es confiable ya que refleja en forma global la evolución metabólica de la simbiosis “kombucha”. En la bebida si existió una producción de ácidos orgánico hasta este tiempo, esto se ve reflejado en el pH y el acidez de este tratamiento la que si decreció hasta las 209 horas.

En el tratamiento a1b2 preparado con Sacarosa (100 g/l) + té (6 g/l) (Anexo B, gráfico No. 2), se observó que después de trascurrido 22 horas de fermentación comienza a disminuir los sólidos solubles de 12ºBrix a 11,73 ºBrix, debido a que en comparación con el anterior tratamiento éste posee mayor cantidad de té como sustrato, por lo que en este tratamiento los microorganismos tienen más té para metabolizar, ya que los microorganismos metabolizan tanto los compuestos del té como el azúcar. Al inicio de la fermentación se registró del promedio de tres replicas 12ºBrix y a las 209 horas que se considera como el tiempo de fermentación para obtener la bebida se registró en promedio 11,13ºBrix.

En el tratamiento a2b1 preparado con Sacarosa (50 g/l) + miel de abeja (50 g/l) + té (2 g/l), (Anexo B, gráfico No. 3), se observó que después de trascurridas 22 horas de fermentación comienzan a disminuir los sólidos solubles de 11,27 ºBrix a 11,13 ºBrix, este tratamiento al contener miel de abeja y no únicamente azúcar, permitió que los microorganismos tengan más variedad de compuestos, para tomar del caldo de cultivo como nutrientes. Por lo que la conversión de metabolitos es más variada que para los tratamientos que contienen únicamente azúcar y té como parte de los sustratos. A las 209 horas que se considera como el tiempo de fermentación para obtener la bebida se registró en promedio 9,2ºBrix.

En el tratamiento a2b2 preparado con Sacarosa (50 g/l) + miel de abeja (50 g/l) + té (6 g/l) (Anexo B, gráfico No. 4), se determinó que después de trascurrido 22 horas de fermentación comienza a disminuir los sólidos solubles de 11,93ºBrix a 11,73ºBrix. A las 209 horas que se considera como el tiempo de fermentación para obtener la bebida se registró en promedio 9,47ºBrix de tres réplicas.

Al analizar todos los tratamientos se determinó que: llegadas las 209 horas de fermentación, los que contenían azúcar y té como sustrato muestran una disminución de los sólidos solubles en menor proporción que los tratamientos que contenían miel de abeja y té. (Anexo B, Gráfico No.l5).

4.1.3 Variación de pH en el tiempo de fermentación. (Gráficos No.6 al No. 10)

Al graficar los datos obtenidos de la variación de pH en el tiempo, se determinó que en todos los tratamientos disminuye el pH a lo largo de la fermentación debido, según Rubio, 2007, a la producción de ácidos orgánicos como el ácido glucurónico y el ácido acético. Entre los sustratos azucarados los tratamientos que contenían miel de abeja más azúcar son los que bajaron más drásticamente el pH a lo largo del tiempo de fermentación.

En el tratamiento a1b1 preparado con Sacarosa (100 g/l) + té (2 g/l) (grafico No. 6), se observó que después de trascurrido 46 horas de fermentación el pH se mantiene en 4,74, a partir de las 67,25 horas disminuye debido a que comienza la producción de ácidos orgánicos. En comparación con los otros tratamientos la disminución del pH es menos drástica, debido a que existe menor sustrato azucarado y menor sustrato de té. El pH a las 209 horas del tratamiento a1b1 fue de 3,63.

En el tratamiento a1b2 preparado con Sacarosa (100 g/l) + té (6 g/l) (grafico No. 7), se determinó que después de trascurrido 46 horas de fermentación comienza a disminuir el pH de 4,42 a 4,33, debido a que en comparación con los otros tratamientos este es el que menos sustratos tiene para el azúcar pero no para el té, por lo que en este tratamiento la microorganismos tiene sustratos para metabolizar. A las 209 horas que se considera como el tiempo de fermentación para obtener la bebida se registró en promedio 3,44.

En el tratamiento a2b1 preparado con Sacarosa (50 g/l) + miel de abeja (50 g/l) + té (2 g/l) (gráfico No. 8), se determinó que después de trascurrido 46 horas de fermentación comienza a disminuir el pH de 4,75 a 4,57, debido a que en comparación con los otros tratamientos este es el que más sustratos tiene para el azúcar y miel pero no para el té, por lo que en este tratamiento la microorganismos tiene sustratos para metabolizar. A las 209 horas que se considera como el tiempo de fermentación para obtener la bebida se registró en promedio 3,27. Por existir mayor sustratos azucarados de la miel y la sacarosa se considera que la producción de ácidos orgánicos por parte de los microorganismos de la simbiosis es mayor que para los tratamientos con sacarosa y té como sustratos.

En el tratamiento a2b2 preparado con Sacarosa (50 g/l) + miel de abeja (50 g/l) + té (6 g/l) (gráfico No. 9), se determinó que después de trascurrido 46 horas de fermentación comienza a disminuir el pH de 4,43 a 4,34, debido a que en comparación con los otros tratamientos este es el que más sustratos tiene para el azúcar, miel y té, por lo que en este tratamiento los microorganismos tiene sustratos para metabolizar. A las 209 horas que se considera como el tiempo de fermentación

para obtener la bebida se registró en promedio 3,35. Por existir mayor sustratos azucarados de la miel y la sacarosa se considera que la producción de ácidos orgánicos por parte de los microorganismos de la simbiosis es mayor que para los tratamientos con sacarosa y té.

4.1.4 Acidez a las 209 y 280,25 horas de fermentación. (Tablas: No.10, y No.11)

Los datos de acidez de los tratamientos se tomó a las 209 y 280,25 horas en las tablas se registra como: ml de NaOH 0,1N gastados por 10 ml de muestra estos datos se evaluaron en InfoStat/l para comprobar el mejor tratamiento para el parámetro acidez. A las 209 horas de fermentación el tratamiento a1b1 registro 3,3 ml de NaOH 0,1N gastados por 10 ml de muestra, siendo el que menor acidez presento de entre todos los tratamientos, mientras que el tratamiento a1b2 presento 4,06 ml de NaOH 0,1N gastados por 10 ml de muestra, estos dos tuvieron azúcar como sustrato lo que determina una menor acidez, en comparación con los tratamiento a2b1 y a2b2.

Los tratamientos que a más de azúcar contenían miel de abeja dentro de los sustratos, por poseer más compuestos azucarados convierten una mayor cantidad de metabolitos ácidos al medio, por lo que presentan una mayor acidez determinando que: para el tratamiento a2b1, 9,53 ml de NaOH 0,1N gastados por 10 ml de muestra, y para el tratamiento a2b2, 6,23 ml de NaOH 0,1N gastados por 10 ml de muestra.

A las 280 horas de fermentación se registró la misma tendencia de aumento de la acidez entre todos los tratamientos, resultando las más bajas la del tratamiento a1b1 y la del tratamiento a1b2 con 3,97 ml de NaOH 0,1N gastados por 10 ml de muestra y 4,66 ml de NaOH 0,1N gastados por 10 ml de muestra respetivamente; en tanto los que presentaron mayor acidez fueron los tratamientos a2b1 y a2b2 con 9,9 ml de NaOH 0,1N gastados por 10 ml de muestra y 6,6 ml de NaOH 0,1N gastados por 10 ml de muestra de acidez respectivamente.

4.1.5 Pesos de la simbiosis “kombucha” al inicio y final de la fermentación. (Tablas: No.13 y No.14)

Se registró al inicio de la fermentación el peso de la simbiosis “kombucha” a inocularse en cada tratamiento. Con el fin de determinar la biomasa producida durante la fermentación se registró el peso final de la “kombucha”, observando que si existe un incremento de biomasa debida al metabolismo microbiano y al consumo de los sustratos, y a la absorción de agua debido a que la simbiosis es como una esponja viva.

4.1.6 Calificaciones de sabor, olor, acidez y dulzor obtenidas mediante análisis sensorial. (Tabla No.15)

Las calificaciones obtenidas de sabor, olor, acidez y dulzor se obtuvieron mediante análisis sensorial de los tratamientos del producto fermentado por 9 días, realizado a 15 catadores no entrenados. Las calificaciones van de 1 a 5 para los diferentes parámetros, siendo la mejor calificación la de 5 y la peor la de 1. Con las calificaciones obtenidas se realizó el análisis estadístico en InfoStat/l aplicando un diseño de bloques para cada característica organoléptica, con el objeto de determinar el mejor tratamiento escogido por los catadores como el más aceptable.

4.1.7 pH y sólidos solubles [ºBrix] del producto pasteurizado. (Tablas: No.16 y No.17)

Para determinar la estabilidad del producto en el tiempo se tomó medidas de pH y sólidos solubles al producto pasteurizado de cada tratamiento, durante 14 días en lapsos de 5 días, determinando que durante este tiempo la bebida mantiene las características físico-químicas estables.

4.2 INTERPRETACIÓN DE DATOS

4.2.4 Análisis factorial de sólidos solubles [ºBrix], a las 209 horas de fermentación. (Anexo D, Análisis No.1)

A las 209 horas de fermentación al realizar la prueba de diferencias significativas de Tukey al 1% se obtiene, para los sustratos azucarados el mejor nivel es el de los tratamientos endulzados con 100 g/l de azúcar, obteniendo como media 11,57 ºBrix de sólidos solubles. En cuanto a las concentraciones de té no se encontró diferencias significativas al 1% pero si al 5% de probabilidad por lo que los sólidos solubles en este tiempo de fermentación se ven afectados por la cantidad de té que se agregue a la bebida al 5% de probabilidad. Entre las interacciones de los factores edulcorantes y concentración de té se obtuvo como mejor tratamiento el a1b1 (Análisis No.1) preparado con 100 g/l de azúcar + 2g/l de té con una media de 12ºBrix.

4.2.5 Análisis factorial del pH a las 209 horas de fermentación. (Anexo D, Análisis No.2)

A las 209 horas de fermentación al realizar la prueba de diferencias significativas de Tukey al 1% se obtiene, para los sustratos azucarados el mejor nivel es el de los tratamientos endulzados con 100 g/l de azúcar, obteniendo como media 3,63 de pH, En cuanto a las concentraciones de té no se encontró diferencias significativas al 1%, ni al 5% de probabilidad por lo que el pH en este tiempo de fermentación no se ve afectado por la cantidad de té que se agregue a la bebida. Entre las interacciones de los factores edulcorantes y concentración de té se determinó que todos los tratamientos son iguales estadísticamente pero realizando el análisis de medias el mejor tratamiento es al a1b1 preparado con 100 g/l de azúcar + 2g/l de té con una media de 3,63 de pH es el que más se aproxima al 3,5 de investigaciones preliminares.

4.2.6 Análisis factorial del acidez, a las 209 horas de fermentación. (Anexo D, Análisis No.3)

A las 209 horas de fermentación al realizar la prueba de diferencias significativas de Tukey al 1% se obtiene, para los sustratos azucarados el mejor nivel es el de los tratamientos endulzados con 100 g/l de azúcar, obteniendo como media 3,68 ml de NaOH gastados por ml de muestra siendo esta la media menor respecto a los

tratamientos endulzados con miel, es mejor debido a que la cantidad de ácidos producida es menor por lo tanto el sabor será mejor que las con miel, se representó únicamente cono ml gastados de NaOH por 10 ml de muestra debido a que la fermentación produce varios ácidos por lo que no sería correcto calcular la concentración únicamente al ácido acético que es el mayoritario. En cuanto a las concentraciones de té no se encontró diferencias significativas al 1%, ni al 5% de probabilidad por lo que el acidez en este tiempo de fermentación no se ve afectado por la cantidad de té que se agregue a la bebida. Entre las interacciones de los factores edulcorantes y concentración de té se determinó que todos los tratamientos son diferentes estadísticamente, el mejor tratamiento es al a1b1 (Análisis No.1) preparado con 100 g/l de azúcar + 2g/l de té con una media de 3,3 ml de NaOH gastados por 10 ml de muestra.

4.2.7 Análisis del sabor de los tratamientos en estudio. (Anexo D, Análisis No.4)

Al realizar la prueba de Tukey para la característica sabor de la bebida evaluada por los catadores se obtuvo como resultado que los tratamientos con mejor sabor estadísticamente iguales fueron los tratamientos a1b2 y el a1b1 preparados con 100 g/l de sacarosa + 6g/l de té y 100 g/l de sacarosa + 2g/l de té respectivamente, de estos dos el con más alta calificaciones fue el a1b2 preparado con 100 g/l de sacarosa + 6g/l con una media de 4,13 puntos de calificación.

4.2.8 Análisis del olor de los tratamientos en estudio. (Anexo D, Análisis No.5)

Al realizar la prueba de Tukey para la característica olor de la bebida evaluada por los catadores se obtuvo como resultado que los tratamientos estadísticamente todos los tratamientos son iguales, para los catadores todos tienen igual olor.

4.2.9 Análisis de la acidez de los tratamientos en estudio. (Anexo D, Análisis No.6)

Al realizar la prueba de Tukey para la característica acidez de la bebida evaluada por los catadores se obtuvo como resultado que los tratamientos con mejor sabor estadísticamente iguales fueron los tratamientos a1b1 y el a1b2 preparados con 100 g/l de sacarosa + 2g/l de té y 100 g/l de sacarosa + 6g/l de té respectivamente, de estos dos el tratamiento con más alta calificaciones fue el a1b1 preparado con 100 g/l de sacarosa + 2g/l con una media de 4 puntos de calificación.

4.2.10 Análisis por bloques del dulzor de los tratamientos en estudio. (Anexo D, Análisis No.7)

Al realizar la prueba de Tukey para la característica acidez de la bebida evaluada por los catadores se obtuvo como resultado que los tratamientos con mejor sabor estadísticamente iguales fueron los tratamientos a1b1 y el a1b2 preparados con 100 g/l de sacarosa + 2g/l de té y 100 g/l de sacarosa + 6g/l de té respectivamente, de estos dos el tratamiento con más alta calificaciones fue el a1b1 preparado con 100 g/l de sacarosa + 2g/l con una media de 4,27 puntos de calificación.

4.3 VERIFICACIÓN DE HIPÓTESIS

De los análisis de varianzas realizados en InfoStat/l; aceptamos la hipótesis alternativa:

Ha: la fermentación de una bebida refrescante de “kombucha” se ve afectada por la utilización de sustratos de té, sacarosa y miel.

Según lo analizado en los numerales anteriores se acepta la hipótesis alternativa que $T \neq 0$, es decir que los sustratos utilizados si influyen en la calidad sensorial y físico química de la bebida fermentada a partir de la simbiosis “kombucha”, por lo que anteriormente se determinó los mejores tratamientos físico - químicos y sensoriales de los tratamientos de la bebida.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

Fue posible en la ciudad de Ambato, el estudio de la elaboración de una bebida refrescante fermentando a temperatura ambiente la simbiosis "kombucha", en un medio líquido de sacarosa y té.

El medio líquido preparado en base una receta estándar de 150 g/l de sacarosa + 10 g/l de té negro permitió la propagación de las películas de "kombucha" necesarias para la investigación. Se inició la propagación con 4 películas de "kombucha" madre de aproximadamente 200 g, después de 2 meses se consiguió 13 películas hijas de "kombucha", lo que demuestra que a partir de la receta estándar si es posible propagar la simbiosis.

Según los factores en estudio establecidos en la investigación se demostró que el factor determinante en las características organolépticas y físico químicas como: pH, acidez y sólidos solubles, de la bebida fue el tipo de edulcorante utilizado el que tuvo diferencias significativas en el análisis estadístico, la concentración de té utilizada no es determinante en las características físico químicas ni organolépticas de la bebida. El estudio de los factores tipo de edulcorante y concentración de té, permitieron establecer una receta adecuada para la obtención de una bebida apta para el consumo humano.

El tiempo óptimo de fermentación en la ciudad de Ambato es a las 209 horas bordeando el tiempo óptimo de 240 a 288 horas según Agencia el vigia 2007, además que la bebida alcanza aproximadamente un pH 3,5 propuesto por Guttapadu 2000; el tiempo de fermentación es relativo al sitio de investigación, debido a que la temperatura de fermentación es al ambiente. A las 209, las características físico - químicas y sensoriales si se vieron afectadas por los factores en estudio. La utilización de los sustratos azucarados influyó en el pH y acidez debida a la

producción de ácidos orgánicos mayoritariamente ácido glucurónico y acético. Se determinó que la mezcla de sustrato miel y azúcar presentan pH bajos y acidez alta, porque la cantidad de compuestos azucarados presentes en la miel es mayor por lo cual la conversión de metabolitos será mayor. La concentración de té no afecto a las características físico - químicas de la bebida. El mejor tratamiento determinado físico - químicamente y organolépticamente fue el a1b1 preparado con preparado con 100 g/l de azúcar + 2g/l de té.

5.2 RECOMENDACIONES

Por el pH acido que alcanza la bebida, se recomienda para la fermentación no utilizar utensilios metálicos, así como, ollas, cuchillos, cerámicas con barnices de plomo, metales en general, en su defecto utilizar ollas esmaltadas para preparar el caldo de cultivo, paletas de madera para mezclar durante la preparación. Para el reposo fermentativo se recomienda realizarlo en botellas plásticas o de vidrio, ya que al utilizar utensilios metálicos se producirán compuestos tóxicos debido a la reacción de los ácidos con los metales.

Se recomienda fermentar utilizando únicamente sacarosa y té como sustratos, no miel de abeja porque ésta en el periodo de fermentación determinado de 209 horas no presenta características físico - químicas ni organolépticas aceptables.

Se recomienda continuar con el desarrollo de estudios sobre la preparación de vinagre de “kombucha”, ya que si bien la miel no dio buenos resultados para la preparación de la bebida, es una ventaja que baje el pH y tenga alta acidez para la fermentación del vinagre.

CAPÍTULO VI

PROPUESTA

6.1 DATOS INFORMATIVOS

Título: "Determinar el costo de producción de la bebida del fermento de "kombucha", utilizando como sustratos en medio líquido sacarosa 100 g/l y té 2 g/l."

Ejecutor: Egdo. Francisco Javier Vargas Mora

Ubicación: Picaihua – Tungurahua - Ecuador.

Tiempo estimado para la ejecución: octubre 2010 – mayo 2011.

Equipo técnico responsable: Egdo. Francisco Vargas, Dr. Homero Vargas M.Sc.

Costo: USD 321,83

6.2 ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA

Al ser la "kombucha" una bebida fermentada no alcohólica tradicional milenaria, refrescantes saludable y curativa, cuyo sabor recuerda ligeramente a la sidra de manzana un poco avinagrada. Los beneficios que se le atribuyen son muy variados que van desde potenciar el sistema inmunológico hasta ayuda a sobrellevar el cáncer.

En vista de las virtudes que se le atribuye a la bebida no es de extrañar la popularidad que ha alcanzado el té de "kombucha" en EEUU y mayoritariamente en ciertos países de Europa, donde ya se comercializan marcas de té de "kombucha".

Las reacciones químicas involucradas en el proceso fermentativo tienen un alto grado de complejidad, ya que científicos han demostrado que la simbiosis produce ácido

glucurónico, ácido láctico, ácido acético, muchas vitaminas, aminoácidos, y sustancias antibióticas, las mismas que le dan un sabor agradable a la bebida. A diferencia de las bebidas fermentadas con mostos de frutas o malta "kombucha" produce una bebida que tiene baja graduación alcohólica, bajo del 0,5% de alcohol.

La fermentación de "kombucha" produce una bebida saludable, producto de una simple combinación de azúcar, té y la simbiosis de "kombucha".

Composición Química, (Buena siembra, 2009).

100 ml del té preparado a base de "kombucha" contiene:

- Vitamina B1
- Vitamina B2
- Vitamina B3
- Vitamina B6
- Vitamina B12
- 6,3 g de glucosa
- 2,8 g de sacarosa
- 0,0 g de ácido láctico
- 0,1 g Vitamina C
- 0,2 g de fructosa
- 0,5 % de alcohol
- Enzimas

6.3 JUSTIFICACIÓN

Ante la creciente demanda de productos naturales por la comunidad frente a la concientización en contra de lo artificial, es necesario presentar en el mercado productos naturales de calidad y producidos bajo normas de higiene que aseguren el máximo aprovechamiento de las propiedades nutricionales y terapéuticas que ofrece la bebida de "kombucha".

La bebida de “kombucha” se ha presentado como remedio casero por el contenido de metabolitos secundarios que se producen por la fermentación, existiendo componentes desintoxicantes que en el cuerpo juegan un rol importante en el metabolismo del ser humano, por lo que el valor agregado que presenta es ser una bebida natural.

Ante lo expuesto es importante producir y expender una bebida saludable, totalmente nueva en el mercado ecuatoriano, que a más de traer beneficios a quien lo consuma creará fuentes de empleo.

El producto al presentar aceptación demostrada en las cataciones realizadas, es importante presentar como alternativa en el mercado de bebidas no alcohólicas, debido a que es un producto totalmente nuevo.

6.4 OBJETIVOS

6.4.1 Objetivo general

Determinar el costo de producción de la bebida del fermento de “kombucha”, utilizando como sustratos en medio líquido sacarosa 100 g/l y té 2 g/l.

6.4.2 Objetivos específicos

- Fermentar la bebida con la receta del mejor tratamiento determinado en la investigación.

- Diseñar la presentación del envase, etiquetado del producto a embotellar.

- Calcular los costos de producción de la bebida.

6.5 ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD

El tipo de investigación fue biotecnológico debido a la utilización de microorganismos para la producción de una bebida refrescante, en el que se determinó la mejor técnica de obtención de un fermento de calidad y con características organolépticas aceptables.

La producción de la bebida es factible económicamente por fermentarse a partir de sustratos sencillos y fáciles de conseguir, además de que se demostró estadísticamente aceptable por 15 catadores, el tratamiento preparado con sacarosa 100 g/l y té 2 g/l, el mismo que se propone producir.

Cuadro No. 9: costos de producción de una parada de la bebida fermentada de la simbiosis "kombucha".

CONCEPTO	UNIDAD	CANTIDAD	P. UNITARIO USD	P. TOTAL USD
INSUMOS Y MATERIALES				
Té negro	gramos	60	0,05	3,00
azúcar de mesa	kg	3	0,80	2,40
Preservante	kg	1	4,00	4,00
Envases plásticos (500 ml)	unidad	60	0,20	12,00
Maquinaria y equipos				1,00
Servicios				21,00
			COSTO TOTAL / PARADA	43,40
Costo unitario de la botella / parada				0,72
Utilidad de la parada				10,85
Utilidad de cada botella				0,18
Precio de venta al público del total producido (parada)				54,25
			Precio de venta al público por unidad	**0,90**

Elaborado por: Francisco Vargas

6.6 FUNDAMENTACIÓN

Proviene del área de Asia Oriental y llegó a Alemania a través de Rusia, más o menos cuando finalizó el siglo. Este antiguo remedio casero se utiliza cada vez más y más también en otros países, contra todos sus posibles defectos. El hongo está formado de una membrana gelatinosa y dura con consistencia de hongo, en forma de un disco aplanado. Vive en una solución de nutrientes de té y azúcar, en la que se multiplica constantemente a través de la germinación.

Durante los procesos de fermentación y oxidación, el hongo lleva a cabo diferentes reacciones complicadas en la sedimentación del té, ya sea una después de otra o de lado a lado (estos son los procesos de asimilación y desasimilación). El hongo del té se alimenta del azúcar y, a cambio, produce otras sustancias valiosas que cambian dentro de la bebida: Ácido glucurónico, Ácido láctico, vitaminas, aminoácidos, sustancias antibióticas y otros productos. Por lo tanto, el hongo del té es una fábrica bioquímica real y pequeña. (Alimentación sana, 2010)

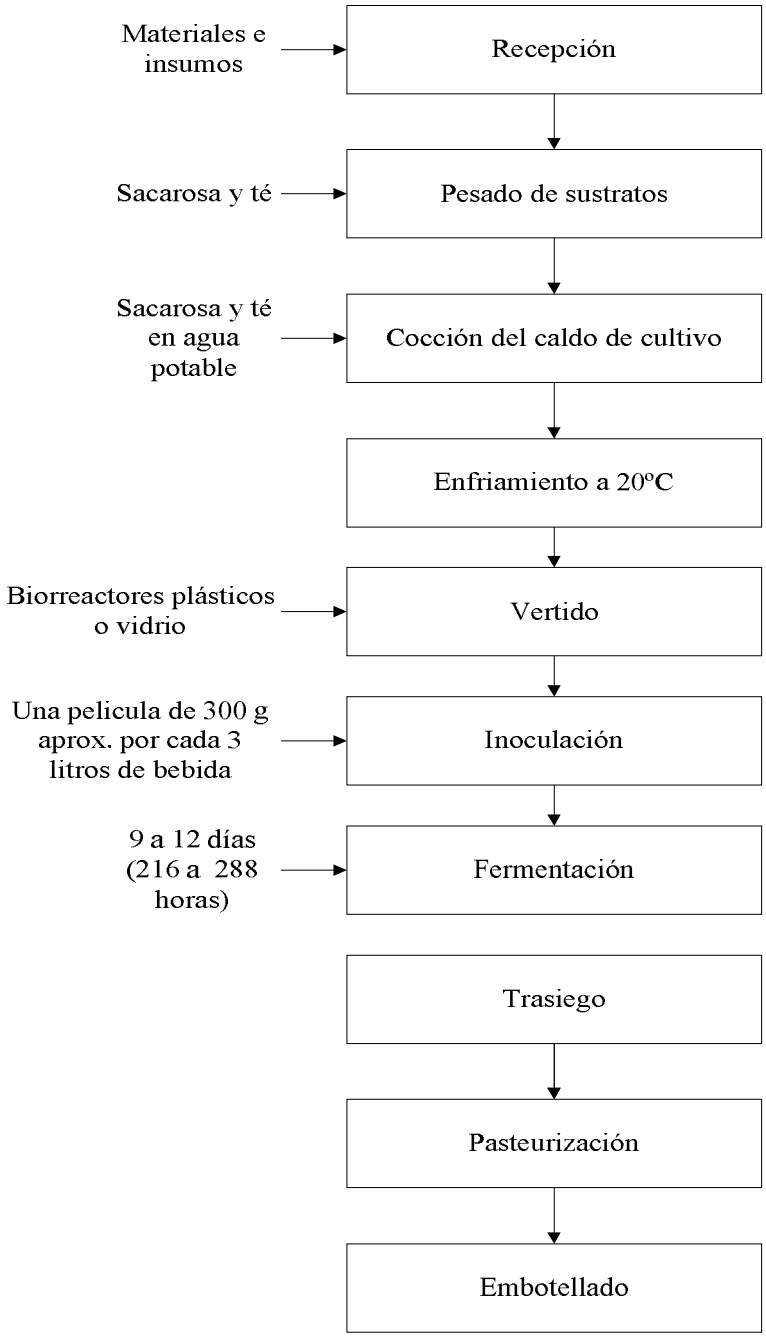
A parte de su principal uso como bebida, se van descubriendo otros posibles usos del "kombucha". Se ha descubierto que la fermentación genera algunos metabolitos bacterianos capaces de actuar como conservantes alimenticios naturales. De entre los productos de la fermentación algunos han demostrado poseer efectos bacteriostáticos contra ciertas bacterias patógenas. La preparación de vinagres mediante el empleo de "kombucha" de fermentación larga (generalmente por encima de las dos semanas) hace que se tenga en cuenta en algunas preparaciones culinarias.

Su sabor es similar a la sidra y otorga una sensación general de bienestar, sin que se noten reacciones colaterales o adversas. Algunas personas tratan de mejorar el té utilizando otros de mejor calidad, como el té de mosqueta, y endulzándolo con miel pura. Sin embargo, el preparado milagroso a partir de este hongo, puede lograrse usando simplemente té común y azúcar

6.7 METODOLOGÍA. MODELO OPERATIVO

Para la producción de la bebida se seguirá la siguiente metodología.

Diagrama de flujo para la producción de la bebida refrescante fermentando la simbiosis "kombucha".



Elaborado por: Francisco Vargas

Cuadro No. 10: modelo operativo.

Fases	Metas	Actividades	Responsables	Recursos	Presupuesto	Tiempo
1. Formulación de la propuesta	Utilización de sustratos primas naturales	Revisión bibliográfica	Investigador	Humanos Técnicos Económicos	USD 30	21 días
2. Implementación de la propuesta	Ejecución de la propuesta	Fermentación de la bebida	Investigador	Humanos Técnicos Económicos	USD 241,83	18 días
3. Evaluación organoléptica de la propuesta.	Determinar la aceptabilidad del producto	Cataciones	Investigador	Humanos Técnicos Económicos	USD 50	15 días

Elaborado por: Francisco Vargas

6.8 ADMINISTRACIÓN

La administración de la propuesta estuvo:

- Coordinada y evaluada por el Dr. Homero Vargas M.Sc. docente de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.
- Desarrollada por: Egdo. Francisco Vargas, alumno del décimo seminario de graduación.

Cuadro No. 11: Administración de la propuesta.

Indicadores a mejorar	Situación actual	Resultados esperados	Actividades	Responsables
Productos desarrollados con ingredientes naturales.	Producción de bebidas no alcohólicas artificiales.	Elaborará una bebida natural con características organolépticas aceptables.	Fermentación de la bebida en base a la aceptabilidad determinada. Diseño de la presentación del envase. Calculo de los costos de producción.	Investigadores: Dr. Homero Vargas M.Sc, Egdo. Francisco Vargas

Elaborado por: Francisco Vargas

6.9 PREVISIÓN DE LA EVALUACIÓN

Cuadro No. 12: Previsión de la evaluación.

Preguntas	Respuestas
¿Quienes solicitan evaluar?	➢ Consumidores ávidos de productos naturales.
¿Por qué evaluar?	➢ Producir una bebida de calidad.
¿Para qué evaluar?	➢ Determinar las condiciones de fermentación adecuadas de la bebida.
¿Qué evaluar?	➢ Insumos. ➢ Tecnología. ➢ Producto terminado.
¿Quién evalúa?	➢ Tutor del proyecto. ➢ Calificadores.
¿Cuándo evaluar?	➢ Desde el inicio del proyecto hasta la defensa del mismo.
¿Cómo evaluar?	➢ Siguiendo procedimientos establecidos por un organismo de control.
¿Con qué evaluar?	➢ Investigación y análisis.

Elaborado por: Francisco Vargas

MATERIALES DE REFERENCIA

1. BIBLIOGRAFÍA

ATENCIO, Florencia, 2005, "Enciclopedia práctica de las medicinas alternativas", editorial Ediciones Lea S.A., Argentina, Pp. 83, 84

BELLOSO, Genette. Hernandez Humberto, 2003, Manufacture of a beverage from cheese whey using a "tea fungus" Fermentation, Vol. 45, Num. 1 - 2, April – June Pp. 6-7-8.

CARRILLO, Daniela, 2009, "La industria de alimentos y bebidas en el Ecuador", Revista INEC, Pp. 13, 14.

GREENWALT; K. H. Steinkraus; R. A. Ledford, 2000, 'kombucha, el té fermentado, microbiología, composición y supuestos efectos en la salud'), en la revista *Journal of Food Protection*, volumen 63, número 7, Pp. 976-981.

GUTTAPADU Sreeramulu, Yang Zhu , Knol Wieger, 2000, Kombucha fermentation and its antimicrobial activity, en la revista *Journal Agric. Food Chem.* Pp. 2589, 2594, 48.

HAIZHEN Mo, 2008, Microbial fermented tea – a potential source of natural food preservatives, en la revista *Trends in Food Science & Technology* , Pp. 124-130, volumen 19,

KAROLINE R. Silva, 2009, *Antimicrobial Activity of Broth Fermented with Kefir Grains, Applied Biochemistry and Biotechnology*, Pp. 316-325.

MADIGAN, M. 2004, "Microbiología de Los Microorganismos De Brock", ed. Prentice Hall, Madrid - España, décima edición, Pp. 367, 680, 598, 655.

MICHAEL B., R. Roussin, 2005, "The microbiology of the Kombucha colony and ferment". Revista, Analyses of Kombucha Ferments: Report on Growers, Pp. 4, 5.

O'BRIEN Mary E., Arthur J. Roberts, Genell Subak-Sharpe, 2009, *Nutricéuticos: suplementos nutricionales, vitaminas, minerale*s, Pp. 278

PALATE, Juan, 2009, "Incidencia del proceso de elaboración en las características organolépticas de una bebida artificial en la empresa Nueva Esperanza", Proyecto de investigación FCial-UTA, Ambato- Ecuador, Pp. ix.

RUBIO, Alfredo, 2007, "Té de kombucha y sus beneficios para el sistema digestivo", Editorial UPE, Cuenca- Ecuador, Pp. 2-5.

WOODROOF, J. PHILLIPS, F. 1981, "Beverages Carbonated and no carbonated", AVI Publishing Company Inc., Westport, Connecticut, U.S.A., Revised Edition, Pp. 1-4, 164-165.

2. INTERNET

Alimentación Sana, 2010, La Kombucha, disponible en: http://www.alimentacion-sana.com.ar/informaciones/novedades/kombucha1.htm

Buena siembra, 2009, Informes y propiedades de la Kombucha, disponible en: http://buenasiembra.com.ar/salud/articulos/informes-propiedades-de-la-kombucha-227.html

Carmela Bottla, 2010, Kombucha, disponible en: http://www.kombucha.8k.com

En buenas manos, 2010, El Kombucha, disponible en: http://www.enbuenasmanos.com/articulos/muestra.asp?art=514

Fundación voy cada vez mejor, 2010, Kombucha, disponible en: http://www.fundcvmejor.com.ar/kombucha.html

GUNTHER Frank, 1996, El té de Kombucha, disponible en: http://www.kombu.de/spanish2.htm

Tulip Time 2007, Propiedades e historia del té de Kombucha, disponible en: http://propiedadesdelte.jaimaalkauzar.es/propiedades-y-historia-del-te-de-kombucha.html

Tulip Time 2007, como preparar el té de Kombucha, disponible en: http://propiedadesdelte.jaimaalkauzar.es/como-preparar-te-de-kombucha.html

3. ANEXOS

ANEXO A

RESPUESTAS EXPERIMENTALES

DATOS REGISTRADOS DE SÓLIDOS SOLUBLES [ºBRIX] DE LOS TRATAMIENTOS DURANTE LA FERMENTACIÓN, A TEMPERATURA AMBIENTAL PROMEDIO DE 15ºC.

FACTOR A.- SUSTRATOS AZUCARADOS.
Nivel a1.- Sacarosa (100g/l)
Nivel a2.- sacarosa (50g/l) + miel de abeja (50 g/l).

FACTOR B.- CONCENTRACIÓN DE TÉ.
Nivel b1.- 2 g/l de té.
Nivel b2.- 6g/l de té.

Tabla No.1: Registro de los º Brix de los tratamientos del 2 al 4 de Febrero del 2011.

Fecha	02-Feb-11			03-Feb-11			04-Feb-11		
TIEMPO (HORAS)	6:00 PM			4:00 PM			4:00 PM		
	0			22			46		
	R1	**R2**	**R3**	**R1**	**R2**	**R3**	**R1**	**R2**	**R3**
a1b1	12	12	12	12	12	12	12	12	12
a1b2	12	12	12	11,6	11,8	11,8	11,6	11,8	11,8
a2b1	11	11,8	11	11	11,8	10,6	10,8	11,2	11
a2b2	12	11,8	12	11,8	11,6	11,8	11,6	11,6	11,2

Tabla No.2: Registro de los º Brix de los tratamientos del 5 al 8 de Febrero del 2011.

Fecha	05-Feb-11			07-Feb-11			08-Feb-11		
TIEMPO (HORAS)	1:15 PM			10:15 AM			10:45 AM		
	67,25			112			137		
	R1	**R2**	**R3**	**R1**	**R2**	**R3**	**R1**	**R2**	**R3**
a1b1	12	12	12	12	12	12	12	12	12
a1b2	11,4	11,8	11,2	11,4	11,6	11	11,2	11,4	11,8
a2b1	10,2	10,8	10,2	10	10,2	10	10,2	9,8	10
a2b2	11,2	11	11,2	10,8	10,6	10,8	10,2	10	10,4

Tabla No.3: Registro de los º Brix de los tratamientos del 9 al 11 de Febrero del 2011.

Fecha	09-Feb-11			10-Feb-11			11-Feb-11		
TIEMPO (HORAS)	10:00 AM			10:00 AM			10:45 AM		
	160,25			184,25			209		
	R1	**R2**	**R3**	**R1**	**R2**	**R3**	**R1**	**R2**	**R3**
a1b1	12	12	12	12	12	12	12	12	12
a1b2	11,2	11,4	11,8	11,2	11,2	11,4	11,2	10,8	11,4
a2b1	10,2	9,8	10	9,6	9,2	9,6	9,4	9	9,2
a2b2	10,2	10	10,4	9,8	9	10	9,8	9	9,6

Tabla No.4: Registro de los º Brix de los tratamientos del 12 al 16 de Febrero del 2011.

Fecha	12-Feb-11			14-Feb-11			16-Feb-11		
TIEMPO (HORAS)	10:45 AM			10:00 AM			3:00 PM		
	233			280,25			333,25		
	R1	**R2**	**R3**	**R1**	**R2**	**R3**	**R1**	**R2**	**R3**
a1b1	12	12	12	11,8	11,6	11,6	11,8	11,6	11,6
a1b2	11	10,8	11,2	10,6	10,6	11	10,2	10,4	10,6
a2b1	9	8,4	8,8	8,2	7,8	8	7,4	7	7,8
a2b2	9	8,2	9,2	8,6	7,4	8,2	8	7	8,2

Tabla No.5: Registro de los º Brix de los tratamientos del 18 de Febrero del 2011.

Fecha	18-Feb-11		
TIEMPO (HORAS)	4:00 PM		
	381,25		
	R1	**R2**	**R3**
a1b1	11,6	11,6	11,6
a1b2	9,8	9,8	10,2
a2b1	7,2	7	7
a2b2	7,8	7	8

DATOS REGISTRADOS DE pH DE LOS TRATAMIENTOS DURANTE LA FERMENTACIÓN, A TEMPERATURA AMBIENTAL PROMEDIO DE 15ºC.

Tabla No.6: Registro del pH de los tratamientos del 3 al 5 de Febrero del 2011.

Fecha	03-Feb-11			04-Feb-11			05-Feb-11		
TIEMPO (HORAS)	4:00 PM			4:00 PM			1:15 PM		
	22			46			67,25		
	R1	**R2**	**R3**	**R1**	**R2**	**R3**	**R1**	**R2**	**R3**
a1b1	4,44	4,84	4,94	4,66	4,61	4,96	4,44	4,33	4,71
a1b2	4,66	4,6	4,01	4,55	4,5	3,95	4,25	4,42	3,71
a2b1	4,58	4,79	4,88	4,52	4,55	4,64	4,19	4,09	4,1
a2b2	4,66	4,43	4,19	4,59	4,34	4,1	4,31	4,12	3,86

Tabla No.7: Registro del pH de los tratamientos del 7 al 9 de Febrero del 2011.

Fecha	07-Feb-11			08-Feb-11			09-Feb-11		
TIEMPO (HORAS)	10:15 AM			10:45 AM			10:00 AM		
	112			137			160,25		
	R1	**R2**	**R3**	**R1**	**R2**	**R3**	**R1**	**R2**	**R3**
a1b1	4,22	4,25	4,37	4,09	4,11	4,19	4	3,98	4,1
a1b2	3,93	4,08	3,52	3,77	3,92	3,55	3,73	3,9	3,5
a2b1	3,82	3,73	3,76	3,7	3,64	3,63	3,57	3,59	3,64
a2b2	3,95	3,71	3,71	3,84	3,59	3,67	3,77	3,56	3,59

Tabla No.8: Registro del pH de los tratamientos del 10 al 12 de Febrero del 2011.

Fecha	10-Feb-11			11-Feb-11			12-Feb-11		
TIEMPO (HORAS)	10:00 AM			10:45 AM			10:45 AM		
	184,25			209			233		
	R1	**R2**	**R3**	**R1**	**R2**	**R3**	**R1**	**R2**	**R3**
a1b1	3,94	3,88	3,94	3,58	3,68	3,62	3,36	3,41	3,33
a1b2	3,72	3,84	3,5	3,42	3,58	3,31	3,21	3,32	3,07
a2b1	3,59	3,6	3,54	3,38	3,01	3,41	3,2	3,13	3,19
a2b2	3,73	3,52	3,57	3,4	3,28	3,37	3,21	3,03	3,1

Tabla No.9: Registro del pH de los tratamientos del 14 al 18 de Febrero del 2011.

Fecha	14-Feb-11			16-Feb-11			18-Feb-11		
TIEMPO (HORAS)	10:00 AM			3:00 PM			4:00 PM		
	280,25			333,25			381,25		
	R1	**R2**	**R3**	**R1**	**R2**	**R3**	**R1**	**R2**	**R3**
a1b1	3,12	3,25	3,17	2,97	3,08	3,03	2,9	2,9	2,93
a1b2	3,03	3,18	3	2,99	3,02	3	2,88	2,91	2,9
a2b1	3,03	3,04	3,04	3	3	3,04	2,99	2,97	2,97
a2b2	3,1	2,95	3,05	3,08	3	2,93	3	2,98	2,9

DATOS REGISTRADOS DE ACIDEZ A LAS 209 Y 280,25 HORAS DE FERMENTACIÓN A TEMPERATURA AMBIENTAL PROMEDIO DE 15ºC.

Tabla No.10: Registro del acidez en ml de NaOH 0,1N gastado por 10 ml de muestra, al noveno día de fermentación.

fecha	11-Feb-11		
TIEMPO (HORAS)	10:45 AM		
	209		
	R1	**R2**	**R3**
a1b1	3,9	2,4	3,6
a1b2	3,8	4	4,4
a2b1	9,3	10,3	9
a2b2	5,2	5,4	8,1

Tabla No.11: Registro del acidez en ml de NaOH 0,1N gastado por 10 ml de muestra, al doceavo día de fermentación.

fecha	14-Feb-11		
TIEMPO (HORAS)	10:00 AM		
	280,25		
	R1	**R2**	**R3**
a1b1	4,7	2,9	4,3
a1b2	4,5	4,5	5
a2b1	9,7	10,5	9,5
a2b2	5,5	5,7	8,6

DATOS REGISTRADOS DE GRADOS ALCOHÓLICOS [ºGL] AL FINAL DE LA FERMENTACIÓN, A TEMPERATURA AMBIENTAL PROMEDIO DE 15ºC.

Tabla No.12: Registro del grado alcohólico [ºGL] al final de la fermentación.

fecha	18-Feb-11		
TIEMPO (HORAS)	4:00 PM		
	381,25		
	R1	**R2**	**R3**
a1b1	< 0,95 ºGL	< 0,95 ºGL	< 0,95 ºGL
a1b2	< 0,95 ºGL	< 0,95 ºGL	< 0,95 ºGL
a2b1	< 0,95 ºGL	< 0,95 ºGL	< 0,95 ºGL
a2b2	< 0,95 ºGL	< 0,95 ºGL	< 0,95 ºGL

DATOS REGISTRADOS DE LOS PESOS DE LA SIMBIOSIS KOMBUCHA AL INICIO Y FINAL DE LA FERMENTACIÓN A TEMPERATURA AMBIENTAL PROMEDIO DE 15ºC.

Tabla No.13: Registro de los pesos [g] de la simbiosis "kombucha" inoculada a tiempo 0 horas.

Fecha	02-Feb-11		
TIEMPO (HORAS)	6:00 PM		
	0		
	R1	**R2**	**R3**
a1b1	257	249	257
a1b2	256	260	260
a2b1	253	255	255
a2b2	255	257	258

Tabla No.14: Registro de los pesos [g] de la simbiosis "kombucha" al final de la fermentación a tiempo 381,25 horas.

Fecha	18-Feb-11		
TIEMPO (HORAS)	4:00 PM		
	381,25		
	R1	**R2**	**R3**
a1b1	314	304	317
a1b2	318	314	314
a2b1	311	312	309
a2b2	310	313	312

Tabla No.15: Datos registrados de las calificaciones de sabor, olor, acidez y dulzor obtenidas mediante análisis sensorial, realizados a 15 catadores no entrenados.

		CATADORES														
CARACTERISTICAS	**TRATAMIENTOS**	**I**	**II**	**III**	**IV**	**V**	**VI**	**VII**	**VIII**	**IX**	**X**	**XI**	**XII**	**XIII**	**XIV**	**XV**
SABOR	**(a1b1) = 110**	4	4	4	5	4	5	5	5	3	3	4	5	3	3	4
	(a1b2) = 120	5	4	5	4	4	5	3	5	3	3	5	5	3	5	3
	(a2b1) = 210	3	2	1	2	3	2	2	2	1	3	1	2	1	2	2
	(a2b2) = 220	2	2	1	1	2	2	1	1	2	3	2	2	1	1	2
OLOR	**(a1b1) = 110**	4	4	3	3	3	4	4	4	4	4	3	4	2	5	4
	(a1b2) = 120	4	4	3	3	3	4	4	5	3	3	3	4	2	4	4
	(a2b1) = 210	3	4	3	4	2	5	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	(a2b2) = 220	3	4	3	4	2	5	3	3	3	4	3	3	3	2	3
ACIDEZ	**(a1b1) = 110**	5	4	4	3	4	5	5	3	3	5	3	5	3	3	5
	(a1b2) = 120	3	5	4	3	4	5	4	4	4	3	3	3	3	5	3
	(a2b1) = 210	1	2	2	2	1	2	1	1	2	1	1	1	2	1	1
	(a2b2) = 220	1	1	2	2	1	2	1	1	1	1	1	1	2	2	1
DULZOR	**(a1b1) = 110**	4	5	4	5	4	3	5	5	3	5	5	3	5	4	4
	(a1b2) = 120	5	5	4	4	4	5	5	5	3	4	5	3	3	3	4
	(a2b1) = 210	3	1	3	3	1	1	4	1	1	1	1	1	1	1	1
	(a2b2) = 220	1	1	3	1	1	1	4	1	1	1	1	1	1	1	2

DATOS TOMADOS DE pH Y SÓLIDOS SOLUBLES CADA 5 DIAS DURANTE 14 DIAS DESPUÉS DE PASTEURIZADO EL PRODUCTO.

Tabla No.16: Registro de pH de la bebida durante 14 días después de la pasteurización.

Fecha	**02-Feb-11**	**07-Feb-11**	**12-Feb-11**	**16-Feb-11**
TIEMPO (HORAS)	**6:00 PM**	**10:15 AM**	**10:45 AM**	**3:00 PM**
	0	**112**	**233**	**333,25**
	DÍA 1	**DÍA 5**	**DÍA 10**	**DÍA 14**
a1b1	3,62	3,6	3,59	3,6
a1b2	3,5	3,53	3,56	3,55
a2b1	3,1	3	2,9	3
a2b2	3,4	3,35	3,31	3,34

Tabla No.17: Registro de sólidos solubles [ºBrix] de la bebida durante 14 días después de la pasteurización.

Fecha	**02-Feb-11**	**07-Feb-11**	**12-Feb-11**	**16-Feb-11**
TIEMPO (HORAS)	**6:00 PM**	**10:15 AM**	**10:45 AM**	**3:00 PM**
	0	**112**	**233**	**333,25**
	DÍA 1	**DÍA 5**	**DÍA 10**	**DÍA 14**
a1b1	12	11,8	11,8	11,8
a1b2	11	11	11,2	11
a2b1	9	9	8,8	8,8
a2b2	9	8,8	8,8	8,8

ANEXO B

GRÁFICOS

GRÁFICOS DE LA VARIACIÓN DE SÓLIDOS SOLUBLES [ºBRIX] DE LOS TRATAMIENTOS DURANTE LA FERMENTACIÓN A TEMPERATURA AMBIENTAL PROMEDIO DE 15ºC.

Gráfico No.1: Reducción de los sólidos solubles [ºBrix] de las medias de los tratamientos a1b1, preparado con: Sacarosa (100g/l) + 2 g/l de té.

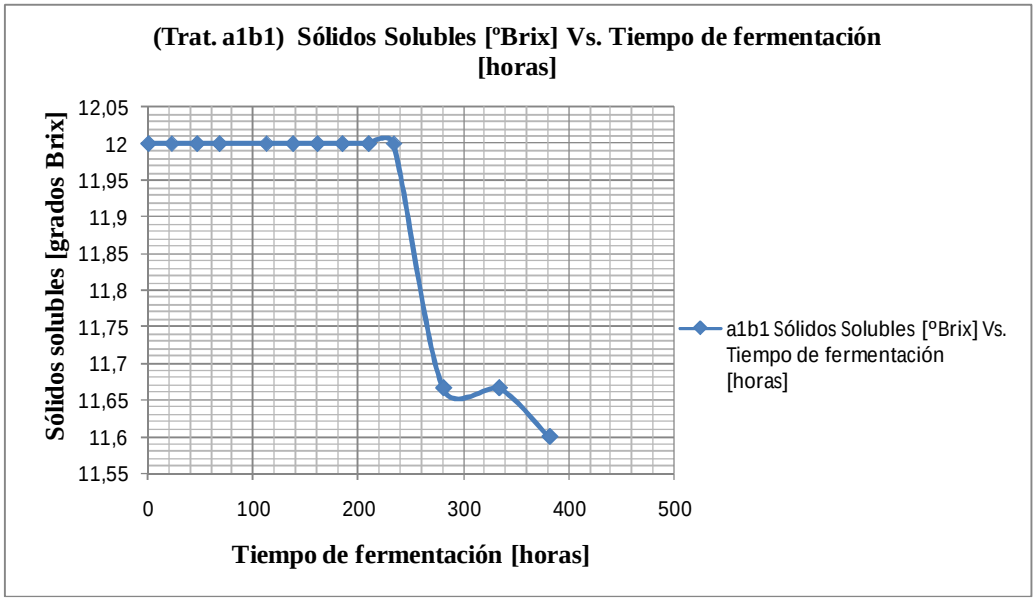


Gráfico No.2: Reducción de los sólidos solubles [ºBrix] de las medias de los tratamientos a1b2, preparado con: Sacarosa (100g/l) + 6 g/l de té.

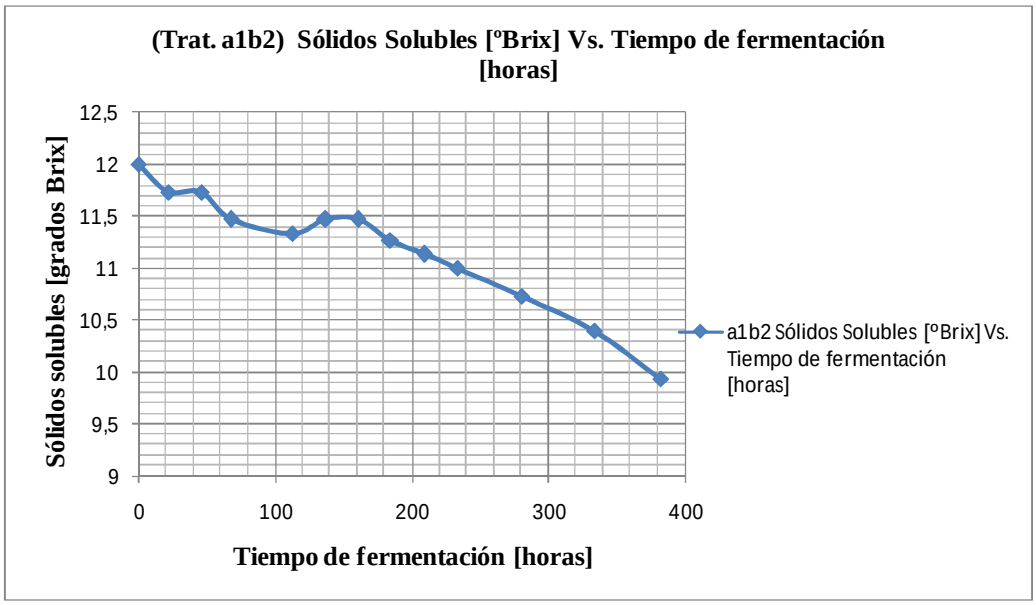


Gráfico No.3: Reducción de los sólidos solubles [ºBrix] de las medias de los tratamientos a2b1, preparado con: sacarosa (50g/l) + miel de abeja (50 g/l) + 2 g/l de té.

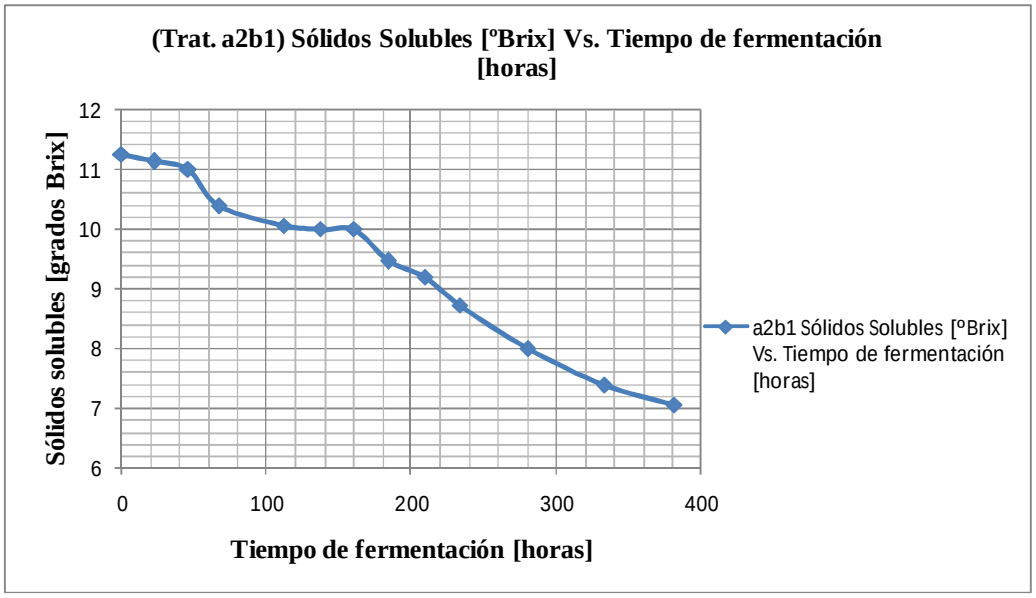


Gráfico No.4: Reducción de los sólidos solubles [ºBrix] de las medias de los tratamientos a2b2, preparado con: sacarosa (50g/l) + miel de abeja (50 g/l) + 6 g/l de té.

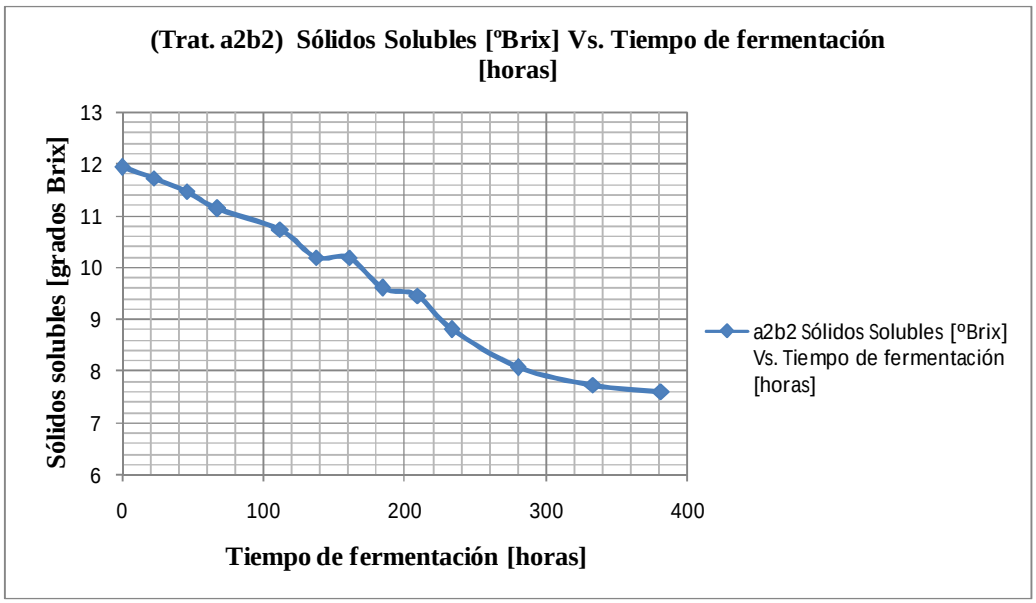
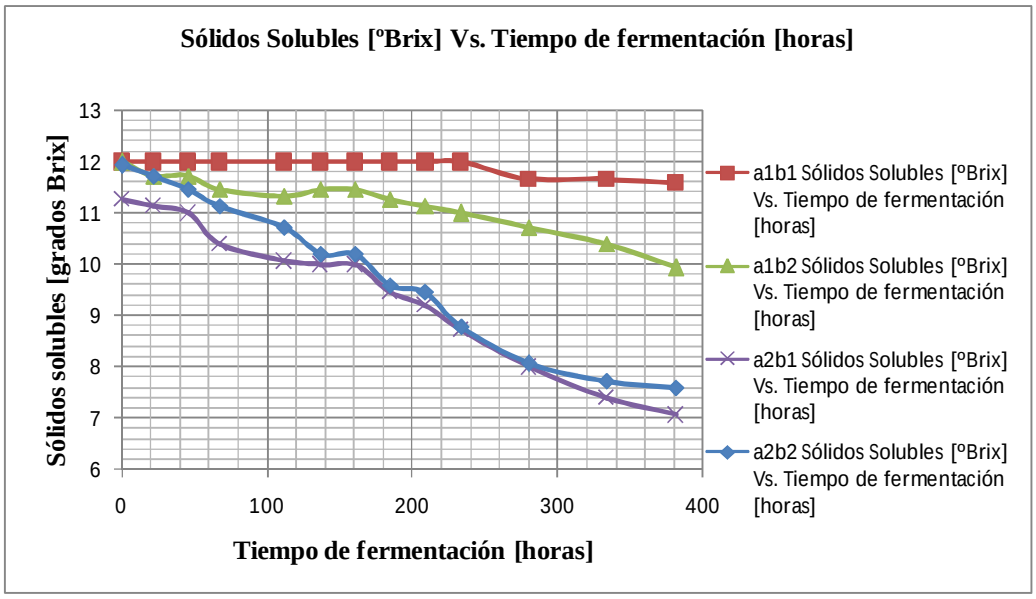


Gráfico No.5: Reducción de los sólidos solubles [ºBrix] de las medias de los tratamientos: a1b1, a1b2, a2b1, a2b2.

FACTOR A.- SUSTRATOS AZUCARADOS.
Nivel a1.- Sacarosa (100g/l)
Nivel a2.- sacarosa (50g/l) + miel de abeja (50 g/l).

FACTOR B.- CONCENTRACIÓN DE TÉ.
Nivel b1.- 2 g/l de té.
Nivel b2.- 6g/l de té.



GRÁFICOS DE LA VARIACIÓN DE pH DE LOS TRATAMIENTOS DURANTE LA FERMENTACIÓN A TEMPERATURA AMBIENTAL PROMEDIO DE 15ºC.

Gráfico No.6: Reducción de pH de las medias de los tratamientos a1b1, preparado con: Sacarosa (100g/l) + 2 g/l de té.

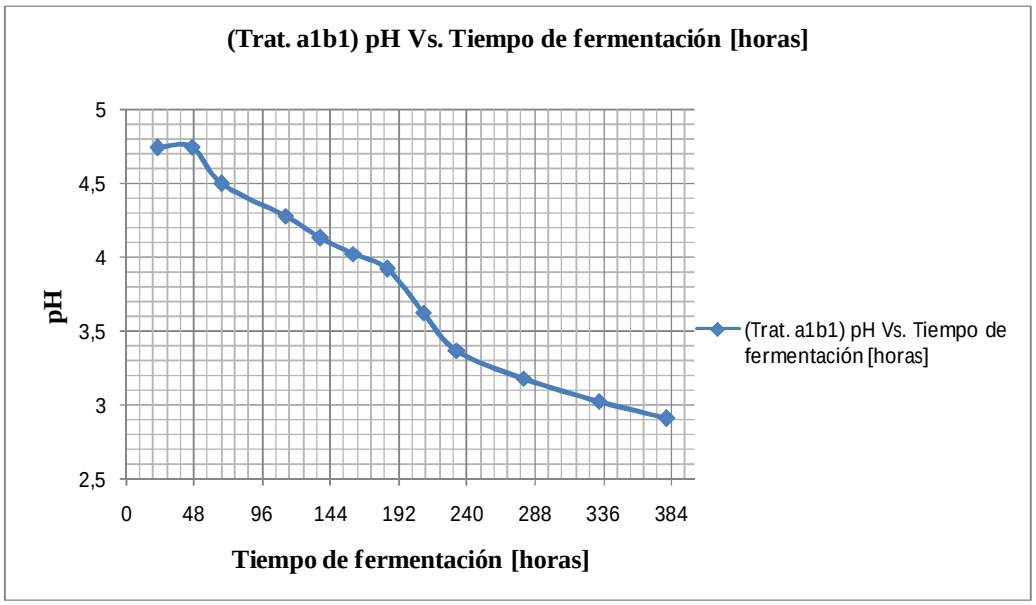


Gráfico No.7: Reducción de pH de las medias de los tratamientos a1b2, preparado con: Sacarosa (100g/l) + 6 g/l de té.

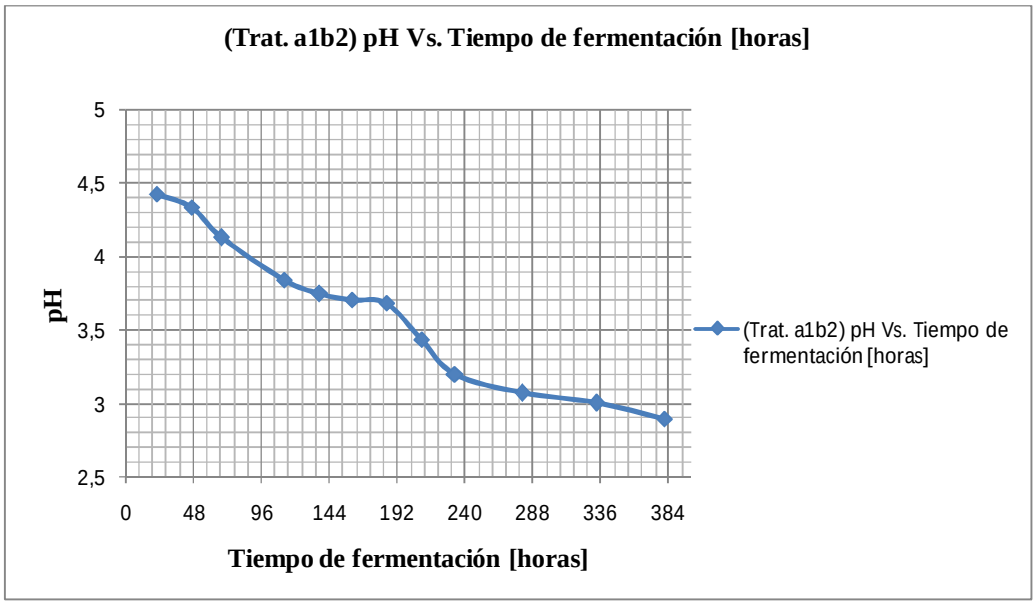


Gráfico No.8: Reducción de pH de las medias de los tratamientos a2b1, preparado con: sacarosa (50g/l) + miel de abeja (50 g/l) + 2 g/l de té.

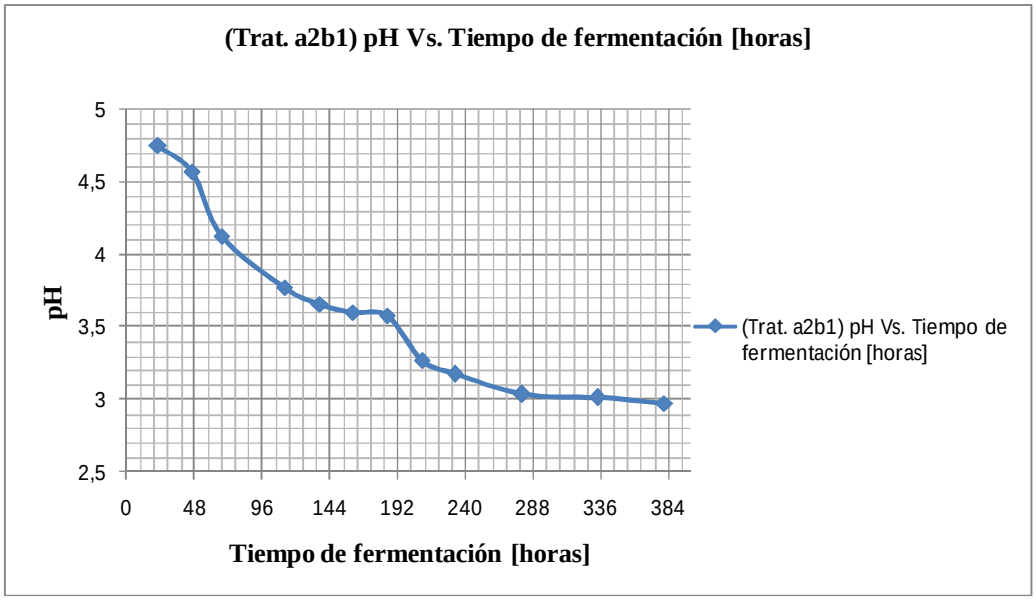


Gráfico No.9: Reducción de pH de las medias de los tratamientos a2b2, , preparado con: sacarosa (50g/l) + miel de abeja (50 g/l) + 6 g/l de té.

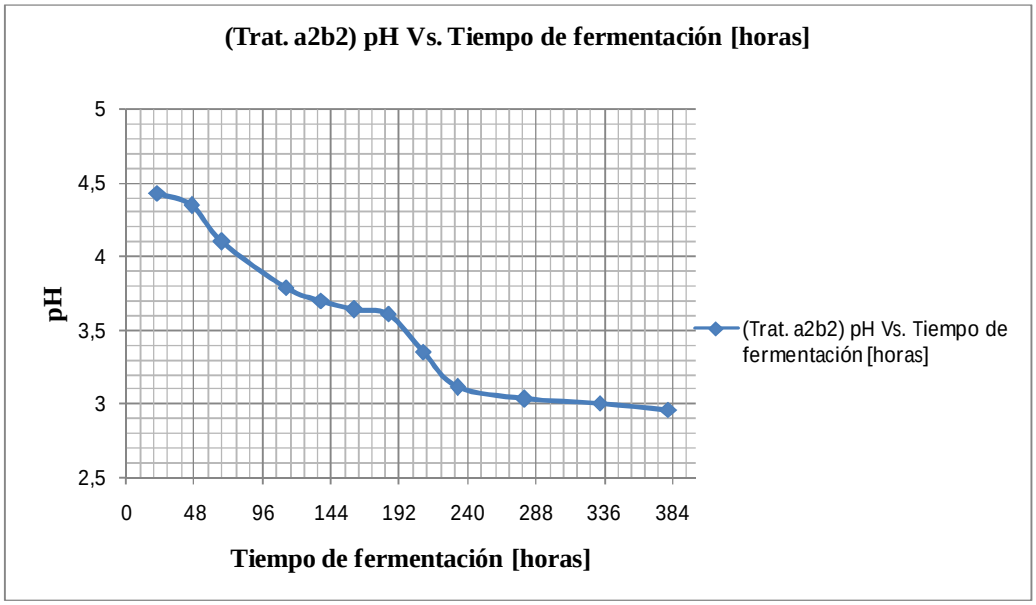
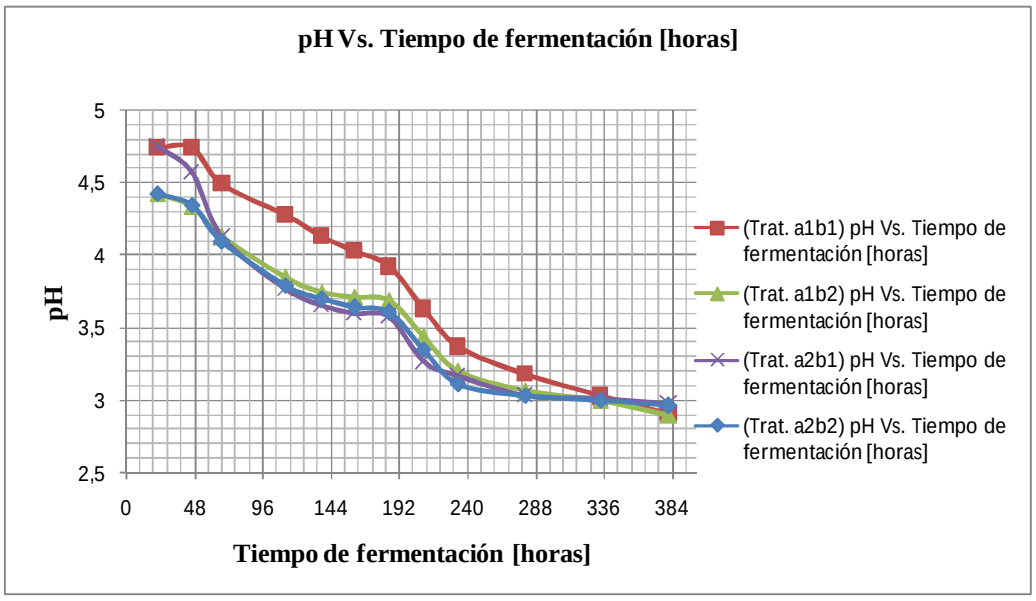


Gráfico No.10: Reducción de pH de las medias de los tratamientos: a1b1, a1b2, a2b1, a2b2.

FACTOR A.- SUSTRATOS AZUCARADOS.
Nivel a1.- Sacarosa (100g/l)
Nivel a2.- sacarosa (50g/l) + miel de abeja (50 g/l).

FACTOR B.- CONCENTRACIÓN DE TÉ.
Nivel b1.- 2 g/l de té.
Nivel b2.- 6g/l de té.



ANEXO C
FICHA TÉCNICA DE ANÁLISIS SENSORIAL

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS

CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA

Género: Masculino____, femenino____.

Edad: _____

Ocupación: _____.

Indicaciones: Deguste cada bebida y marque con una X, la alternativa que crea pertinente para cada característica organoléptica.

Características	Alternativas	110	120	210	220
SABOR	*1. Desagrada mucho*				
	2. Desagrada poco				
	3. Ni gusta ni disgusta				
	4. Gusta poco				
	5. Gusta mucho				
OLOR	*1. Carente de olor*				
	2. Ligeramente perceptible				
	3. Ni gusta ni disgusta				
	4. Aromático				
	5. Aroma agradable				
ACIDEZ	*1. Extremadamente ácido*				
	2. Muy ácido				
	3. Ni gusta ni disgusta				
	4. Algo ácido				
	5. Acidez adecuada				
DULZOR	*1. Extremadamente dulce*				
	2. Muy dulce				
	3. Ni gusta ni disgusta				
	4. Algo dulce				
	5. Dulzor adecuado				

Comentarios: _____

Gracias por su colaboración.

ANEXO D
ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE SÓLIDOS SOLUBLES [ºBRIX].

Análisis No.1: Análisis factorial de sólidos solubles [ºBrix], a las 209 horas de fermentación.

FACTOR A.- SUSTRATOS AZUCARADOS.
Nivel a1.- Sacarosa (100g/l)
Nivel a2.- sacarosa (50g/l) + de miel de abeja (50 g/l).

FACTOR B.- CONCENTRACIÓN DE TÉ.
Nivel b1.- 2 g/l de té.
Nivel b2.- 6g/l de té.

Análisis de la varianza

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
°Brix	12	0,99	0,97	1,89

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
réplicas	0,38	2	0,19	4,89	0,0551
sust. azucarados	14,96	1	14,96	384,77	<0,0001
conc. de té	0,27	1	0,27	6,94	0,0388
sust. azucarados*conc. de ..	0,96	1	0,96	24,77	0,0025
Error	0,23	6	0,04		
Total	16,81	11			

Test: Tukey Alfa=0,01 DMS=0,42186
Error: 0,0389 gl: 6

sust. azucarados	Medias	n	E.E.		
a1	11,57	6	0,08	A	
a2	9,33	6	0,08		B

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,01)

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,27864
Error: 0,0389 gl: 6

conc. de té	Medias	n	E.E.		
b1	10,60	6	0,08	A	
b2	10,30	6	0,08		B

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

Test: Tukey Alfa=0,01 DMS=0,80040
Error: 0,0389 gl: 6

sust. azucarados	conc. de té	Medias	n	E.E.			
a1	b1	12,00	3	0,11	A		
a1	b2	11,13	3	0,11		B	
a2	b2	9,47	3	0,11			C
a2	b1	9,20	3	0,11			C

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,01)

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE pH

Análisis No.2: Análisis factorial de pH, a las 209 horas de fermentación.

FACTOR A.- SUSTRATOS AZUCARADOS.
Nivel a1.- Sacarosa (100g/l)
Nivel a2.- sacarosa (50g/l) + de miel de abeja (50 g/l).

FACTOR B.- CONCENTRACIÓN DE TÉ.
Nivel b1.- 2 g/l de té.
Nivel b2.- 6g/l de té.

Análisis de la varianza

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
pH	12	0,61	0,28	4,50

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
réplicas	0,01	2	3,5E-03	0,15	0,8665
sust. azucarados	0,15	1	0,15	6,32	0,0457
conc. de té	0,01	1	0,01	0,36	0,5702
sust. azucarados*conc. de ..	0,06	1	0,06	2,37	0,1749
Error	0,14	6	0,02		
Total	0,36	11			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,21741
Error: 0,0237 gl: 6

sust. azucarados	Medias	n	E.E.	
a1	3,53	6	0,06	A
a2	3,31	6	0,06	B

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE ACIDEZ [ml de NaOH gastados por 10 ml de muestra]

Análisis No.3: Análisis factorial del acidez, a las 209 horas de fermentación.

FACTOR A.- SUSTRATOS AZUCARADOS.
Nivel a1.- Sacarosa (100g/l)
Nivel a2.- sacarosa (50g/l) + de miel de abeja (50 g/l).

FACTOR B.- CONCENTRACIÓN DE TÉ.
Nivel b1.- 2 g/l de té.
Nivel b2.- 6g/l de té.

Análisis de la varianza

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
ml de NaOH 0,1N	12	0,92	0,85	17,53

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
réplicas	1,45	2	0,73	0,71	0,5304
sust. azucarados	52,92	1	52,92	51,48	0,0004
conc. de té	4,81	1	4,81	4,68	0,0737
sust. azucarados*conc. de ..	12,40	1	12,40	12,06	0,0132
Error	6,17	6	1,03		
Total	77,76	11			

Test: Tukey Alfa=0,01 DMS=2,16902

Error: 1,0281 gl: 6

sust. azucarados	Medias	n	E.E.		
a1	3,68	6	0,41	A	
a2	7,88	6	0,41		B

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,01)

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=2,86609

Error: 1,0281 gl: 6

sust. azucarados	conc. de té	Medias	n	E.E.			
a1	b1	3,30	3	0,59	A		
a1	b2	4,07	3	0,59	A	B	
a2	b2	6,23	3	0,59		B	
a2	b1	9,53	3	0,59			C

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LAS CATACIONES

Análisis No.4: Análisis por bloques del sabor de los tratamientos en estudio.

FACTOR A.- SUSTRATOS AZUCARADOS.
Nivel a1.- Sacarosa (100g/l)
Nivel a2.- sacarosa (50g/l) + de miel de abeja (50 g/l).

FACTOR B.- CONCENTRACIÓN DE TÉ.
Nivel b1.- 2 g/l de té.
Nivel b2.- 6g/l de té.

Análisis de la varianza

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
CALIFICACIÓN DEL SAB	60	0,80	0,72	24,72

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
CATADORES	10,60	14	0,76	1,42	0,1848
TRATAMIENTOS	79,92	3	26,64	50,10	<0,0001
Error	22,33	42	0,53		
Total	112,85	59			

Test: Tukey Alfa=0,01 DMS=0,88304

Error: 0,5317 gl: 42

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	
(a1b2)	4,13	15	0,19	A
(a1b1)	4,07	15	0,19	A
(a2b1)	1,93	15	0,19	B
(a2b2)	1,67	15	0,19	B

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,01)

Análisis No.5: Análisis por bloques del olor de los tratamientos en estudio.

FACTOR A.- SUSTRATOS AZUCARADOS.
Nivel a1.- Sacarosa (100g/l)
Nivel a2.- sacarosa (50g/l) + de miel de abeja (50 g/l).

FACTOR B.- CONCENTRACIÓN DE TÉ.
Nivel b1.- 2 g/l de té.
Nivel b2.- 6g/l de té.

Análisis de la varianza

Variable	N	R²	R² Aj	CV
CALIFICACIÓN DEL OLO	60	0,54	0,35	17,56

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
CATADORES	14,90	14	1,06	2,99	0,0031
TRATAMIENTOS	2,53	3	0,84	2,37	0,0841
Error	14,97	42	0,36		
Total	32,40	59			

Test: Tukey Alfa=0,01 DMS=0,72288

Error: 0,3563 gl: 42

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	
(a1b1)	3,67	15	0,15	A
(a1b2)	3,53	15	0,15	A
(a2b1)	3,20	15	0,15	A
(a2b2)	3,20	15	0,15	A

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,01)

Análisis No.6: Análisis por bloques del acidez de los tratamientos en estudio.

FACTOR A.- SUSTRATOS AZUCARADOS.
Nivel a1.- Sacarosa (100g/l)
Nivel a2.- sacarosa (50g/l) + de miel de abeja (50 g/l).

FACTOR B.- CONCENTRACIÓN DE TÉ.
Nivel b1.- 2 g/l de té.
Nivel b2.- 6g/l de té.

Análisis de la varianza

Variable	N	R²	R² Aj	CV
CALIFICACIÓN DEL AC	60	0,83	0,76	26,98

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
CATADORES	6,93	14	0,50	0,99	0,4766
TRATAMIENTOS	94,32	3	31,44	63,08	<0,0001
Error	20,93	42	0,50		
Total	122,18	59			

Test: Tukey Alfa=0,01 DMS=0,85491

Error: 0,4984 gl: 42

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.		
(a1b1)	4,00	15	0,18	A	
(a1b2)	3,73	15	0,18	A	
(a2b1)	1,40	15	0,18		B
(a2b2)	1,33	15	0,18		B

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,01)

Análisis No.7: Análisis por bloques del dulzor de los tratamientos en estudio.

FACTOR A.- SUSTRATOS AZUCARADOS.
Nivel a1.- Sacarosa (100g/l)
Nivel a2.- sacarosa (50g/l) + de miel de abeja (50 g/l).

FACTOR B.- CONCENTRACIÓN DE TÉ.
Nivel b1.- 2 g/l de té.
Nivel b2.- 6g/l de té.

Análisis de la varianza

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
CALIFICACIÓN DEL DUL	60	0,85	0,79	25,95

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
CATADORES	22,90	14	1,64	2,99	0,0030
TRATAMIENTOS	109,78	3	36,59	66,92	<0,0001
Error	22,97	42	0,55		
Total	155,65	59			

Test: Tukey Alfa=0,01 DMS=0,89547

Error: 0,5468 gl: 42

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.		
(a1b1)	4,27	15	0,19	A	
(a1b2)	4,13	15	0,19	A	
(a2b1)	1,60	15	0,19		B
(a2b2)	1,40	15	0,19		B

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,01)

ANEXO E

IMÁGENES

IMÁGENES DEL TRANSCURSO DE LA INVESTIGACION.

Imagen No.1: Propagación en medio líquido con receta estándar, de la simbiosis necesaria para la investigación.



Imagen No.2: Simbiosis “kombucha” propagas**.**



Imagen No.3: Capuchón de lienzo que permite el venteamiento de la fermentación**.**



Imagen No.3: Almacenamiento de las simbiosis propagadas.



Imagen No.4: Olla esmaltada apta para la preparación del caldo de cultivo.



Imágenes No.5 y 6: Pesado de los ingredientes de los tratamientos.





(5) **(6)**

Imagen No.8: Establecimiento del experimento en Laboratorio De Análisis De Alimentos FCIAL



Imagen No.9: Brixómetro utilizado en la investigación.



Imagen No.10: Midiendo sólidos solubles de los tratamientos.



Imagen No.11: Midiendo pH de los tratamientos.



Imagen No.12 y 13: Midiendo acidez de los tratamientos.





Imagen No.14: Midiendo grados alcohólicos de los tratamientos.



Imagen No.15: Tamización de la bebida fermentada previo a la pasteurización.



Imagen No.16: Etiqueta del envase del producto.



Imagen No.17: Producto envasado.



ANEXO F

NORMAS