



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y
BIOTECNOLOGÍA



Tema: Desarrollo de una bebida a base de harina de caña de maíz (*Zea mays*) y salvado de arroz (*Oryza sativa*) con doble fermentación.

Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniero en Alimentos, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autor: Juan Esteban Lluglla Ponluisa
Tutor: PhD. David Andrés Terán Mera

AMBATO – ECUADOR
Enero - 2020

APROBACIÓN DEL TUTOR

Ph.D. David Andrés Terán Mera

CERTIFICA:

Que el presente trabajo de titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Trabajo de Titulación bajo la Modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que corresponde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad.

Ambato, 11 de Diciembre del 2019



Ph.D. David Andrés Terán Mera

C.I. 1716569726

TUTOR

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Juan Esteban Lluglla Ponluisa, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Trabajo de Titulación modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniero en Alimentos, son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas.

A handwritten signature in blue ink, consisting of several loops and flourishes, positioned above a horizontal dotted line.

Sr. Juan Esteban Lluglla Ponluisa

C.I. 1804980082

AUTOR

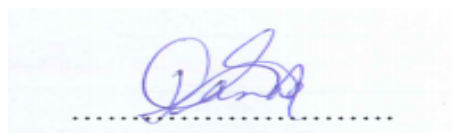
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Trabajo de Titulación, modalidad proyecto de investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:



Presidente del Tribunal de Grado



Lic.Mg. Danae Fernández Rivero

C.I. 1757181209



Lic. MSc. Paulo Santiago Baquero Icaza

C.I. 1803233541

Ambato, 07 de Enero del 2020

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este proyecto de investigación o parte de él un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los derechos en línea patrimoniales de mi proyecto de investigación, con fines de difusión pública; además, apruebo la reproducción de este proyecto dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.

A handwritten signature in blue ink, consisting of several overlapping loops and strokes, positioned above a horizontal dotted line.

Sr. Juan Esteban Lluglla Ponluisa

C.I. 1804980082

AUTOR

DEDICATORIA

A Dios

A mis padres y hermano

Dimos, Zeus y Tebito 🐾

AGRADECIMIENTO

A Dios por ser mi pilar fundamental en mi familia y mi vida, por brindarme la fuerza y sabiduría necesaria para culminar esta etapa de mi vida.

A mis padres Juan Lluglla y Pastora Ponluisa, a mi hermano Sebastián Lluglla, quienes fueron mi mayor apoyo en toda mi vida personal y carrera universitaria, gracias a sus largos consejos los cuales me dieron la fuerza necesaria para seguir adelante, ellos siempre son y serán la razón de mi constante lucha en esta vida.

A mis tutores, Ing. Lily – Ing. David, más que tutores amigos y grandes personas a quien admiraré siempre por su profesionalismo y calidad humana, gracias por estar siempre ahí, tendiendo sus manos en todo momento, siempre serán personas de gran admiración y respeto, Dios los Bendiga Siempre.

A mis amigos y personas quienes formaron parte de mi vida de una u otra manera, ¡GRACIAS...! por creer en mí, tardé un poco, pero lo LOGRÉ...!

Att: TbO

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	i
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD.....	ii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO	iii
DERECHOS DE AUTOR	iv
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTO	vi
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS.....	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ix
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT.....	xii

CAPITULO 1

MARCO TEÓRICO

1.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.....	1
1.2 OBJETIVOS.....	3
1.2.1 General.....	3
1.2.2 Específicos	4
1.3 HIPÓTESIS	4
1.3.1 Hipótesis nula:	4
1.3.2 Hipótesis alternativa:	4
1.4 SEÑALAMIENTO DE LAS VARIABLES DE LA HIPÓTESIS.....	4
1.4.1 Variable Independiente	4
1.4.2 Variable Dependiente	4

CAPITULO II

METODOLOGÍA

2.1 MATERIALES	5
2.1.1 Materia prima.....	5
2.2 MÉTODOS.....	5
2.2.1 Elaboración de la bebida	5
2.2.1.1 Activación del microorganismo	5

2.2.1.2 Crecimiento del microorganismo en el sustrato	6
2.2.1.3 Fermentación en medio sólido (FMS)	6
2.2.1.4 Fermentación en medio líquido (FML)	6
2.2.1.5 Evaluación sensorial	6
2.2.3. Estimación del tiempo de vida útil	8
2.2.3.1 Determinación de pH	8
2.2.3.2 Determinación de acidez titulable.....	8
2.2.3.3 Análisis microbiológico.....	8
2.2.4 Análisis Proximal	9
2.2.4.1 Determinación de humedad	9
2.2.4.2 Determinación de proteína.....	10
2.2.4.3 Determinación de grasa	10
2.2.4.4 Determinación de fibra	11
2.2.5 Determinación de perfil de ácidos grasos.....	12
2.2.6 Diseño Experimental	13
2.2.7 Análisis Estadístico	14

CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis y Discusión de resultados	15
3.1.1 Crecimiento del microorganismo en el sustrato	15
3.1.2 Evaluación sensorial	16
3.1.3 Vida útil del mejor tratamiento.....	17
3.1.3.1 pH y acidez	17
3.1.3.2 Análisis Microbiológico	20
3.1.4 Análisis Proximal.....	22
3.1.5 Análisis del perfil de ácidos grasos.....	24
3.1.6 Verificación de la Hipótesis.....	27

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 CONCLUSIONES.....	28
4.2 RECOMENDACIONES	29
MATERIAL DE REFERENCIA	30
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30

ANEXOS	35
--------------	----

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Parámetros sensoriales.....	7
Tabla 2: Factores y niveles del diseño	14
Tabla 3: Combinaciones experimentales.	14
Tabla 4: Selección del mejor tratamiento mediante análisis de los diferentes tratamientos .	16
Tabla 5 : Tiempo de vida útil para el parámetro de pH	19
Tabla 6 : Tiempo de vida útil para el parámetro de acidez	20
Tabla 7: Resultados microbiológicos para la bebida fermentada T4 (50% HC-50% HS con <i>Aspergillus orizae</i> tipo red).....	21
Tabla 8: Resultados del análisis proximal para la bebida fermentada T4 (50% HC-50% HS con <i>Aspergillus orizae</i> tipo red).....	24
Tabla 9: Descripción del perfil de ácidos grasos para el tratamiento 4 (primera y segunda réplica)	36

INDICE DE FIGURAS

Figura1: Prueba de Tuckey al 95% de confianza para la variación de proporciones de sustratos, T1(100% harina de caña de maíz - 0% harina de salvado de arroz), T2 (80% harina de caña de maíz -20% harina de salvado de arroz), T3 (70% harina de caña de maíz -30% harina de salvado de arroz), T4 (50% harina de caña de maíz -50% harina de salvado de arroz), T5 (20% harina de caña de maíz -80% harina de salvado de arroz), T7 (0% harina de caña de maíz -70% harina de salvado de arroz), T5 (20% harina de caña de maíz -100% harina de salvado de arroz).....	15
Figura 2: Perfil sensorial de control, T1(100% harina de caña de maíz - 0% harina de salvado de arroz), T2 (80% harina de caña de maíz -20% harina de salvado de arroz), T3 (70% harina de caña de maíz -30% harina de salvado de arroz), T4 (50% harina de caña de maíz -50% harina de salvado de arroz), T6 (30% harina de caña de maíz -70% harina de salvado de arroz)	17
Figura 3: Variación del pH para la determinación de la vida útil a temperatura de refrigeración y ambiente.....	18
Figura 4: Variación de acidez para la determinación de la vida útil a temperatura de refrigeración y ambiente	19

Figura 5 : Recuento de aerobios mesófilos para el tratamiento 4 (50% harina de caña de maíz - 50% harina de salvado de arroz ; <i>Aspergillus orizae</i> tipo red)	22
Figura 6: Perfil de ácidos grasos saturados en la bebida con doble fermentación.....	25
Figura 7: Perfil de ácidos grasos monoinsaturados en la bebida con doble fermentación....	26
Figura 8: Perfil de ácidos grasos poliinsaturados en la bebida con doble fermentación	27
Figura 9: Perfil cromatográfico de ácidos grasos tratamiento 4 (primera réplica)	35
Figura 10: Perfil cromatográfico de ácidos grasos tratamiento 4 (segunda réplica).....	35

RESUMEN

En este trabajo se presenta una alternativa para bebidas lácteas fermentadas, en donde se desarrolla una bebida a base de harina de caña de maíz y harina de salvado de arroz con doble fermentación. En la fermentación sólida (FMS) se determinó los mejores tratamientos, en función del tiempo del crecimiento del hongo *Aspergillus orizae* tipo red, y para la fermentación en medio líquido (FML), se utilizó suero de leche reconstituido con una combinación de cepas de especies bacterianas como: *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*. Los ingredientes utilizados en el desarrollo de la bebida tuvieron influencia en las características organolépticas evaluadas a través de un análisis sensorial, el cual tuvo como resultado la mejor proporción que fue el T4 (50% harina de caña de maíz, 50% harina de salvado de arroz con *Aspergillus orizae* tipo red). Los análisis realizados al mejor tratamiento fueron: análisis fisicoquímicos como pH y acidez, estimando con estos parámetros la vida útil de la bebida, por medio del método de la cinética química (ecuación de Arrhenius). En la parte microbiológica se realizó un recuento de *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* y aeróbios mesófilos como lo indica la norma ecuatoriana NTE INEN 2564, estos recuentos se realizaron a temperaturas de 4 y 25°C. En el análisis proximal, se observó variaciones en los datos obtenidos en la investigación con los bibliográficos. También se realizó un análisis de perfil de ácidos grasos al mejor tratamiento encontrándose con un 64.24% de ácidos grasos saturados y 33.49% de ácidos grasos insaturados.

Palabras clave: harina de caña de maíz, harina de salvado de arroz, bebida fermentada, fermentación sólida, fermentación líquida, suero de leche.

ABSTRACT

An alternative for fermented milk drinks is presented, where a beverage based on corn cane flour and rice bran flour with double fermentation is developed. In solid fermentation (FMS) the best treatments were determined, depending on the time of growth of the fungus *Aspergillus orizae* red type, and for fermentation in liquid medium (FML), reconstituted whey was used with a combination of species strains bacterial such as: *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*. The ingredients used in the development of the beverage had an influence on the organoleptic characteristics evaluated through a sensory analysis, which resulted in the best proportion that was the T4 (50% corn cane flour -50% bran flour rice with *Aspergillus orizae* type red). The analyzes performed at the best treatment were: physicochemical analysis such as pH and acidity, estimating with these parameters the shelf life of the drink, through the method of chemical kinetics (Arrhenius equation). In the microbiological part, a count of *E. coli*, *Listeria monocytogenes* and mesophilic aerobes was performed as indicated by the Ecuadorian NTE INEN 2564 standard, these counts were performed at temperatures of 4 and 25 ° C. In the proximal analysis, it was possible to observe variations in the data obtained in the research with the bibliographies. A fatty acid profile analysis was also performed, which was performed at the best treatment, with 64.24% of saturated fatty acids and 33.49% of unsaturated fatty acids.

Keywords: corn cane flour, rice bran flour, fermented beverage, solid fermentation, liquid fermentation, whey.

CAPITULO 1

MARCO TEÓRICO

1.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

La necesidad del hombre por conservar los alimentos surgió, al no tener alimentos disponibles fuera de la cosecha o estaciones, la época de invierno era un periodo de escasez, puesto que no se disponía de ningún alimento hasta el verano próximo. En climas tropicales sucedía lo contrario, se contaba con una amplia gama de alimentos disponibles todo el año, pero al ser un clima cálido los alimentos tendían a deteriorarse rápidamente, impidiendo su consumo. Es así como surgió el proceso denominado fermentación, en donde se utilizaba bacterias u otros microorganismos inofensivos para la conservación de estos alimentos (**Roza Bernal, 2002**).

Tanto la fermentación sólida (FMS), como la fermentación en medio líquido (FML) son grandes alternativas en la industria alimentaria; ya que muchas tecnologías modernas tienen como base las fermentaciones tradicionales para fabricar alimentos tales como queso, vino, cerveza, teniendo como resultado la manera de poder elaborar productos de forma controlada, y con un buen rendimiento (**Pastrana, 1996**).

La fermentación en medio sólido (FMS) es utilizada desde tiempos ancestrales, pero hace poco tiempo ha despertado un gran interés por este tipo de fermentación debido a que su rendimiento es alto en la producción de metabolitos de alto valor agregado a nivel industrial (**Ruíz, Rodríguez, Contreras, & Aguilar, 2007**). La elección de microorganismos en esta fermentación es muy importante, y va a depender que tipo de producto se desarrollará. Los hongos filamentosos son los más adecuados para este tipo de fermentación como *Aspergillus*, *Claviceps*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Trichoderma*. El metabolismo de interés a nivel industrial de estos hongos es el primario, ya que por medio de este se puede obtener un gran número de moléculas, como por ejemplo el ácido cítrico producido por *Aspergillus* (**Roussos & Perraud-Gaime, 1996**). En la mayoría de las FMS tanto el soporte y el sustrato tienen que ser equilibrados por lo que es importante que la formulación de los medios de cultivo se base en materiales como granos de cereales o alguna parte de ellos, semillas oleaginosas o residuos agrícolas (**Pastrana, 1996**).

La fermentación en medio líquido (FML) también se la utiliza desde tiempos antiguos, al igual que la FMS tiene como objetivo producir metabolitos de intereses industriales (**Torres, 2006**). Este tipo de fermentación se define como un cultivo de células microbianas dispersas en forma homogénea en un medio líquido (el cual debe tener las condiciones óptimas para el crecimiento de dichos microorganismos), en un recipiente agitado que puede ser aireado o no, por medios mecánicos. El desarrollo de esta técnica ha sido de gran importancia en todo tipo de industrias, debido a que permite el cultivo de microorganismos aerobios en condiciones homogéneas con una densidad moderada de biomasa (**Gómez, 2001**).

Por otra parte, es necesario mencionar que el concepto de alimentos funcionales nació en Japón en los años 80, el cual se define como alimentos que forman parte de una dieta normal y que contiene componentes biológicamente activos que brindan beneficios a la salud y reducen el riesgo de sufrir enfermedades. Como alimentos funcionales se destacan aquellos que contienen de forma natural concentraciones altas de vitaminas, minerales, ácidos grasos, proteína y fibra (**Hernandez, 2007**).

Diferentes productos han sido categorizados como posibles ingredientes para la preparación de bebidas funcionales, entre estos se pueden mencionar:

- El suero de leche es considerado como ingrediente para la elaboración de alimentos funcionales, debido a que este subproducto es una fuente rica en proteínas, lactosas, vitaminas y minerales, los cuales pueden ser aprovechados de diferentes formas en la industria (**Hernández & Vélez, 2014**). El suero de leche se define como el resultante de la coagulación de la leche en la fabricación de queso luego de la separación de la caseína y la grasa (**Romero & Fajardo, 2016**). El suero de leche es una de las bases en la elaboración de bebidas lácteas, que son mezclas compuestas por suero, reconstituido y no, con agua potable, con o sin agregación de otros ingredientes no lácteos, y aromatizantes (**NTE INEN 2609, 2012**).
- El salvado de arroz es un subproducto alimenticio el cual contiene propiedades funcionales y compuestos únicos de muy alto valor, los cuales hacen que estos tengan un amplio uso en grandes sectores como la industria de alimentos funcionales, industria cosmética y farmacéutica (**Vargas & Aguirre, 2011**). La fibra insoluble contenida en este salvado ayuda en las funciones

gastrointestinales, como también previniendo el desarrollo de algunas enfermedades como el cáncer de colon-rectal, mientras que la fibra soluble ayuda en el control de los niveles de colesterol y glucosa en la sangre, previniendo así enfermedades como la diabetes mellitus tipo II y arteriosclerosis (**Díaz, 2016**). El valor nutricional de este salvado es muy elevado ya que posee una excelente fuente de minerales (7-10%), proteínas (12-16%), ácidos grasos (15-20%), vitaminas y fibra dietética (23-28%) (**Díaz, 2016**).

- La caña de maíz también se le puede considerar como un alimento funcional, debido al gran porcentaje de fibra que contiene. Ya que una definición reciente, añade a la definición previa de fibra al concepto nuevo de fibra funcional (**Escudero & González, 2006**). Tanto la planta como la mazorca del maíz, posee un alto rendimiento de biomasa por unidad de área y su valor nutritivo es muy bueno, llegando a ser excelente cuando el maíz que se encuentra en la planta está en un estado lechoso y pastoso duro (**Amador & Boschini, 2000**). La caña de maíz es muy rica en fibra llegando a obtener un 79,6%, proteína 8,3%, azúcares solubles 35.3%, cenizas 8.9% (**Treviño, Hernández, & Caballero, 2011**).

Estudios recientes muestran que las bebidas fermentadas elaboradas a base de alimentos funcionales son muy saludables, debido a que las proteínas contenidas en este suero permanecen solubles frente al pH ácido del estómago, permitiendo que lleguen de una manera rápida e intactas al intestino realizando así mejor su absorción. Su largo paso por el intestino ayuda en algunas funciones como: interacciones con la flora gastrointestinal o con los minerales presentes en el bolo alimenticio mejorando su absorción (**Vela, Castro, Caballero, & Ballinas, 2012**).

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 General

Desarrollar una bebida láctea a base de harina de caña de maíz (*Zea mays*) y salvado de arroz (*Oryza sativa*) con fermentación sólida y láctica.

1.2.2 Específicos

- Determinar la mezcla óptima de los cereales utilizados.
- Evaluar las características organolépticas mediante paneles sensoriales.
- Establecer el tiempo de vida útil del producto terminado.
- Evaluar la calidad del producto terminado mediante análisis proximal y perfil de ácidos grasos del mejor tratamiento.

1.3 HIPÓTESIS

1.3.1 Hipótesis nula:

H₀: Las harinas de caña de maíz y salvado de arroz como ingredientes no influyen en la calidad de la bebida láctea fermentada.

1.3.2 Hipótesis alternativa:

H₁: Las harinas de caña de maíz y salvado de arroz como ingredientes si influyen en la calidad de la bebida láctea fermentada.

1.4 SEÑALAMIENTO DE LAS VARIABLES DE LA HIPÓTESIS

1.4.1 Variable Independiente

- Harina de caña de azúcar
- Harina de Salvado de arroz

1.4.2 Variable Dependiente

- Análisis sensorial
- Análisis proximal

CAPITULO II

METODOLOGÍA

2.1 MATERIALES

2.1.1 Materia prima

La caña de maíz, proveniente de la provincia de Tungurahua ciudad de Pelileo cultivado de forma artesanal después de haber sido seleccionado y limpiado, se procedió a triturarla para extraerle el jugo en un triturador de caña de azúcar artesanal, y posteriormente se secó a temperaturas de 70°C en una estufa de convección (LAB INCUBATOR, modelo IN-0.10) por 24 horas. Después se procedió a molerlo en un molinillo de café (DAEWOO, modelo DCG-362), la harina obtenida se introdujo en fundas de papel celofán, la cual se esterilizó en un autoclave (HIRAYAM, modelo HV-85) por 2 horas y finalmente se conservó en un lugar fresco y seco para su posterior utilización.

El salvado de arroz, proveniente provincia de Santo Domingo cultivado de manera artesanal, después de haber sido seleccionado y limpiado de impurezas, se procedió a molerlo en una trituradora de café (DAEWOO, modelo DCG-362). La harina obtenida se introdujo en fundas de papel celofán, la cual se esterilizó en una autoclave (HIRAYAM, modelo HV-85) por 2 horas y finalmente se conservó en un lugar fresco y seco para su posterior utilización.

El suero fue adquirido de la empresa láctea EL ORDENÑO S.A. (Machachi-Ecuador) de forma liofilizada. Para obtener el suero de forma líquida se utilizó los siguientes porcentajes: 6.4% de suero liofilizado en 93.4% de agua.

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Elaboración de la bebida

2.2.1.1 Activación del microorganismo

Se utilizó *Aspergillus orizae* cepa comercial adquirida de forma liofilizada en Gemcultures USA, del tipo light. El liofilizado se activó en tubos de ensayo con 9mL de caldo de papa dextrosa y 1g de microorganismo con lo cual se inoculó 200 µL en agar PDA (Agar papa dextrosa), a 30°C por 5 días.

2.2.1.2 Crecimiento del microorganismo en el sustrato

Como sustrato en la fermentación se utilizó harina de maíz (HC) y harina de salvado de arroz (HS) en diferentes relaciones: 100% HC-0% HS, 80% HC-20% HS, 70% HC-30% HS, 50% HC-50% HS, 20% HC-80% HS, 30% HC-70% HS, 0% HC-100% HS, respectivamente.

2.2.1.3 Fermentación en medio sólido (FMS)

Se realizó en cajas Petri con 8g de sustrato para cada tratamiento, posteriormente se alcanzó una humedad del 90%, en cajas sembradas con el microorganismo se desprendió aproximadamente 1g del hongo y se colocó por encima del sustrato a 30°C por 72 horas.

2.2.1.4 Fermentación en medio líquido (FML)

Una vez finalizado la FMS y seleccionado los mejores tratamientos, se llevó a cabo la fermentación en medio sumergido por 4 horas, en frascos de vidrio de 250mL previamente esterilizados. Se realizó una relación sustrato y suero de leche (28.5g de la mezcla de harinas en 200mL de suero) en donde se adicionó 100µL de un conjunto de especies de microorganismos como: *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus delbrueckii subesp. Bulgaricus*, los cuales fueron adquiridos de una colección alemana de cultivos en forma liofilizada, estas cepas bacterianas son consideradas como probióticos, las mismas que fueron propagadas en agar MRS a 37°C durante 48 horas.

2.2.1.5 Evaluación sensorial

Se realizó una primera prueba de aceptación, utilizando escalas hedónicas de cinco puntos. A cada uno de los calificativos empleados en la escala, se le asignó un valor de 1 a 5 con respecto al color, olor, sabor, acidez y aceptabilidad.

Para la evaluación, se empleó un panel de 15 catadores semientrenados. Cada una de las muestras, se presentó aleatoriamente a cada evaluador, se evaluaron 5 tratamientos con sus respectivos blancos sin fermentación, las muestras se colocaron en recipientes idénticos y codificados con números aleatorios y por triplicado (**Watts, Ylimaki, Jeffery, & Elías, 1992**).

En la **Tabla 1** se observan los parámetros que fueron evaluados:

Tabla 1: Parámetros sensoriales

ATRIBUTOS	PARÁMETROS
COLOR	Muy intenso
	Intenso
	Ni intenso ni pálido.
	Pálido
	Muy pálido
SABOR	Muy desagradable
	Desagradable
	Ni desagradable ni agradable
	Agradable
	Muy agradable
OLOR	Muy intenso
	Intenso
	Agradable
	Ligero
	No tiene
ACIDEZ	Extremadamente ácido
	Muy ácido
	Ácido
	Poco ácido
	Nada ácido
ACEPTABILIDAD	Muy desagradable
	Desagradable
	Ni desagradable ni agradable
	Agradable
	Muy agradable

2.2.3. Estimación del tiempo de vida útil

Este análisis se realizó en el mejor tratamiento que fue obtenido por medio del análisis sensorial, dicha estimación se obtuvo mediante un análisis fisicoquímico realizado por 11 días, determinando frecuentemente pH y acidez a dos diferentes temperaturas (refrigeración (4°C); ambiente (25°C) (Nuñez, 2013), en frascos de vidrio con tapa metálica y cierre twist off, con capacidad de 250 mL.

2.2.3.1 Determinación de pH

El pH se determinó siguiendo la metodología de la Normativa ecuatoriana (NTE INEN 1087, 1984), utilizando un potenciómetro pHmetro (Mettler Toledo SevenCompact) previamente calibrado con soluciones buffer 4.0 y buffer 7.0. Para ellos se utilizó 20 mL de cada muestra y se midió por triplicado.

2.2.3.2 Determinación de acidez titulable

La acidez titulable se determinó mediante la técnica oficial de la (NTE INEN 0013, 1984), homogenizando 9mL de muestra en 1mL de agua destilada y 3 gotas de fenolftaleina como indicador, y una solución valorada de NaOH 0.1N. Para el cálculo de la acidez se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% \text{ácido láctico} = \frac{V(\text{NaOH}) * N(\text{NaOH}) * \text{Meq}(\text{ac. láctico})}{\text{peso de la muestra}} * 100$$

Ecuación 1

Donde:

V (NaOH) = volumen gastado de la muestra

N (NaOH) = normalidad del NaOH

Meq (ac. láctico) = mili equivalentes del ácido láctico = 0.09

2.2.3.3 Análisis microbiológico

Para el análisis microbiológico se basó en la normativa (NTE INEN 2564, 2019), donde se tomó 10µL de las bebidas y se llevó a bolsas totalmente estériles (Sterilin, Stone, Staffordshire, Reino Unido) con 90mL de agua peptonada (400C, Seward, Londres, Reino Unido).

Posteriormente se preparó las diluciones correspondientes para la determinación de los diferentes microorganismos tales como: (i) recuento de coliformes totales y *E. coli*, se

utilizó agar VRG (Violet Red Bile Glucose Agar) y se inoculó 100µL de las bebidas y se incubaron a 37°C por 24 horas, (ii) *Listeria monocytogenes* se empleó BD Listeria Agar (Agar para Listeria) con la técnica vertido en placa se incubaron a 37°C por 24 horas, (iii) recuento de aerobios mesófilos se utilizó agar Nutritivo, y con la técnica de vertido en placa se incubaron a 37°C por 24 horas.

Todos los recuentos se representaron como logaritmo de unidades formadoras de colonias por gramo de muestra (log UFC/mL). Todos los análisis se realizaron por duplicado. EL ensayo se llevó acabo durante 11 días a temperatura ambiente (25°C) y 11 días a temperatura de refrigeración (4°C).

2.2.4 Análisis Proximal

2.2.4.1 Determinación de humedad

La humedad se determinó de acuerdo con la norma (NTE INEN ISO 5537, 2014). Se pesaron 3g de muestra en una cápsula vacía y tarada, y se introdujo en una estufa secándola a una temperatura de 105°C ± 1°C por 24 horas, hasta obtener un peso constante. Finalmente, se enfrió en un desecador y se pesó. Todos los ensayos se realizaron por duplicado. El contenido de materia seca se obtuvo utilizando las siguientes ecuaciones:

$$\%materia\ seca = \frac{(m3-m1)}{(m2-m1)} * 100$$

Ecuación 2

Donde:

m1= peso de la cápsula (g)

m2= peso de la muestra + cápsula (g)

m3= peso de la muestra seca + cápsula (g)

$$\%humedad = 100 - \%materia\ seca$$

Ecuación 3

2.2.4.2 Determinación de proteína

La cantidad de proteína se determinó basándose en la norma (AOAC 2001.11. 2001) para bebidas fermentadas. Para esto se pesó 3g de las muestras y se añadió dos pastillas Kjeldahl y 15mL de H₂SO₄. La muestra preparada se llevó a ebullición por el lapso de 1 hora, hasta que ocurra un cambio de coloración que va desde marrón a verde esmeralda. Después la muestra se enfrió y se añadió 70mL de agua destilada, luego de enfriar se añadió 50mL de NaOH 40% (p/v), esta solución se introdujo en un destilador de proteína Vapodest Gerhardt (TT625, España) junto con 30mL de H₃BO₃ 1N contenido en un matraz para ser filtrado, este filtrado se tituló con HCl 0.1M hasta llegar a un color rosa. El contenido de proteína se calculó con la siguiente ecuación:

$$Kjeldahl\ nitrógeno\ \% = \frac{(VS * VB) * M * 14.01}{W * 10}$$

Ecuación 4

$$\%proteína\ cruda = \%Kjeldahl\ N * F$$

Ecuación 5

Donde:

VS = volumen (mL) de ácido estandarizado usado para valorar una prueba

VB = volumen (mL) de ácido estandarizado usado para valorar el blanco del reactivo

M = molaridad de HCl estándar

14.01 = peso atómico del nitrógeno N

W = peso (g) del estándar de prueba

10 = factor para convertir mg/g en porcentaje

2.2.4.3 Determinación de grasa

La grasa se determinó basándose en la norma (NTE INEN 2446, 2013). Se pesó 5g de la bebida deshidratada en un tipo capuchón, el cual se lo tapó con algodón, conectándolo después al extractor de grasa (SER 148 VelP® Scientifical), en un vaso de vidrio se agregó 9mL de éter dietílico, posteriormente la muestra preparada se colocó en el equipo. La extracción de grasa se la realizó en un lapso de 4 horas por medio de ebullición y lavado. Finalmente se recuperó el solvente quedando la grasa en

el vaso. Los ensayos se realizaron por duplicado, y se utilizó la siguiente ecuación para obtener el porcentaje de grasa:

$$\%grasacruda = \frac{m2 - m1}{m} * 100$$

Ecuación 6

Donde:

m = peso de la muestra

m1 = peso del vaso

m2 = peso del vaso con grasa

2.2.4.4 Determinación de fibra

La determinación de la fibra dietética total se realizó por medio del método enzimático – gravimétrico de acuerdo a la (FAO, 1993). En un vaso de precipitación se añadió 1g de la muestra, con 50mL de tampón fosfato pH 6.0. Luego se adicionó 0.1mL de amilasa.

Esta solución se colocó en un baño María, dejándolo hervir por unos 15 minutos con agitación continua con intervalos de 5 minutos. El pH se ajustó a 7.5 ± 0.2 con NaOH 0.275 N, 10mL aproximadamente. Luego se añadió 5mg de proteasa y se incubó por 30 minutos a 60°C agitándolo continuamente.

Se dejó enfriar añadiendo 10mL de HCl 0.325 N. El pH se debe de ajustar entre 4.0 – 4.6. A esto se añadió 0.3mL de amilogucosidasa y se incubó a 60°C por 30 minutos, agitándolo continuamente, luego se adicionó 280mL de etanol al 95% precalentando a 60°C.

La muestra se dejó precipitar por unos 60 minutos. El crisol que contuvo el celite se humedeció y se distribuyó el celite por todo el crisol, para esto se utilizó etanol al 78% aplicando succión. El residuo se lavó con etanol al 78%, dos partes de 10mL de etanol al 95% y dos porciones de 10mL de acetona. El tiempo de filtración y lavado se tardó aproximadamente de 1 a 6 horas.

El crisol que contenía el residuo se dejó secando toda la noche en una estufa (Lab Incubator Model: IN-0.10) a 70°C, dejándolo enfriar y registrando su peso. El residuo de la segunda muestra se calcinó a 525°C por 5 horas, se enfrió y se registró el peso

para determinar las cenizas. Finalmente se determinó la proteína usando $N \times 6.25$ como factor de conversión en el residuo de una de las muestras de los duplicados.

Se efectuó la determinación del blanco mediante la siguiente ecuación:

$$B = \text{Blanco, mg} = \text{masa del residuo}$$

Ecuación 7

Donde:

Masa del residuo = promedio de masa del residuo (mg) para la determinación del blanco

PB y CB = masa (mg) de proteína y cenizas, respectivamente en los residuos de los blancos

El cálculo del porcentaje de fibra dietética total se determina mediante la siguiente ecuación:

$$\%FDT = \frac{(m1 - P - C - B)}{m} * 100$$

Ecuación 8

Donde:

m = masa de la muestra = promedio de la masa de 2 muestras (mg)

m1 = masa del residuo = promedio de las masas de las muestras determinadas duplicado (mg)

P y C = masa (mg) de proteína y cenizas, respectivamente en los residuos de las muestras

B = blanco

2.2.5 Determinación de perfil de ácidos grasos

Después de la determinación y cuantificación de la grasa por medio del método (**NTE INEN ISO 2446, 2013**), se debe de obtener ésteres metílicos de las muestras a determinar, se pesó aproximadamente 0.020 a 0.025g de grasa extraída de la bebida en un tubo de tapa rosca de 20mL. Se añadió 2mL de solución metanólica de KOH 0.5 M, llevando a ebullición por un lapso de 10 minutos y dejando enfriar a temperatura ambiente. En un tubo se colocó la cantidad de 1mL de solución metanólica de HCl llevando a un baño María a 50°C por 25 minutos, y se dejó enfriar a temperatura

ambiente. Se añadió 3mL de agua destilada pura y se colocó 10mL de hexano y se agitó por 10 segundos, dejando reposar por 24 horas. Se extrajo 1.5mL del extracto de hexano el cual se colocó en un vial cromatográfico de gases (**AOAC 996.06, 1996**).

Las condiciones para la determinación del perfil de ácidos grasos en la bebida son las siguientes: Cromatógrafo de Agilent Technologies 7890^a GC System, el cual consta de un inyector Split-splitles Intet, con una columna de sílica fundida Omegawax Supelco 320 (60m - 250 μ m – 0.2 μ m) y un detector de ionización. El volumen utilizado para la inyección fue de 0.2 μ L por triplicado. Las condiciones cromatográficas fueron: temperatura inicial del horno 250°C por 3 minutos aumentados hasta 240°C (10°C/min), temperatura de puesto de inyección 80°C, temperatura del detector 260°C.

Se utilizó nitrógeno como gas transportador a un flujo lineal de aproximadamente 25cm/seg. Las áreas de los picos y los tiempos de retención se obtuvieron por medio del software NIST MS 2.2 2.014. Para identificar los ácidos grasos se comparó la mezcla de los estándares de referencia con los tiempos de retención y áreas de las muestras. La cantidad de ácidos grasos se cuantificaron por medio de la relación porcentual del área total y área de los picos.

2.2.6 Diseño Experimental

El presente trabajo estaba comprendido de dos secciones experimentales, en la primera sección se utilizó un diseño de dos factores evaluando los diferentes tratamientos y los porcentajes de cada sustrato, con dos réplicas para de esta manera obtener una interpretación eficaz de los resultados obtenidos con los factores de estudio. La segunda sección fue el análisis sensorial en cuanto a color, sabor, olor, acidez y aceptabilidad, por medio de la primera sección se procedió a seleccionar 5 tratamientos de 7, en esta sección se utilizó un diseño factorial de bloques con b (bloques) = 5, c (catadores)= 15, según lo descrito por (**Cordero, 2017**).

En la **Tabla 2** se detalla los diferentes factores y niveles que se evaluaron en la primera sección y en la Tabla 3, se detallan las condiciones experimentales utilizadas.

Tabla 2: Factores y niveles del diseño experimental

Factores	Niveles
a= harina de caña de azúcar b= harina de salvado de arroz	a1b1
	a2b2
	a3b3
	a4b4
	a5b5
	a6b5
	a7b7

Tabla 3: Combinaciones experimentales

Tratamientos	Proporciones (%)	Combinaciones
T1	100-0	a1b1
T2	80-20	a2b2
T3	70-30	a3b3
T4	50-50	a4b4
T5	20-80	a5b5
T6	30-70	a6b5
T7	0-100	a7b7

2.2.7 Análisis estadístico

Los datos obtenidos se indican con la media \pm desviación estándar y análisis de varianza (ANOVA) de factores de acuerdo con los experimentos. Cuando se detectaron diferencias significativas en los resultados se realizó un análisis de comparación múltiple mediante la prueba de Tuckey. Las diferencias se consideraron significativas al 95% de confianza. Para el análisis estadístico se emplearon los programas EXCEL® y Statgraphics Centurion®.

CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis y Discusión de resultados

3.1.1 Crecimiento del microorganismo en el sustrato

En la **Figura 1** se observa las 7 proporciones utilizadas (harina de caña de maíz y salvado de arroz), frente al tiempo (horas), de las cuales 5 de ellas resultaron óptimas para el crecimiento del microorganismo (*Aspergillus oryzae* del tipo Light), debido a que estas presentaron un tiempo de colonización y fermentación corto frente a las 2 restantes. Esto se debe a que la harina de caña de maíz al contener mucha fibra aproximadamente un 79,6% de su peso (Treviño et al., 2011), tiende a absorber mayor cantidad de agua, ya que a mayor contenido de fibra, mayor será la absorción de agua y movimientos de humedad (García & Salcedo, 2006), contribuyendo de mejor manera al crecimiento del hongo. El salvado de arroz es menor en fibra de 23 a 28% (Díaz, 2016), el cual no tiende a absorber mucha agua, por lo tanto no tiende a mantener mucha humedad en su estructura, sin embargo contribuye a un rápido crecimiento del micelio del hongo, siendo este muy popular para este tipo de siembras (Gaitán-Hernández, 2005).

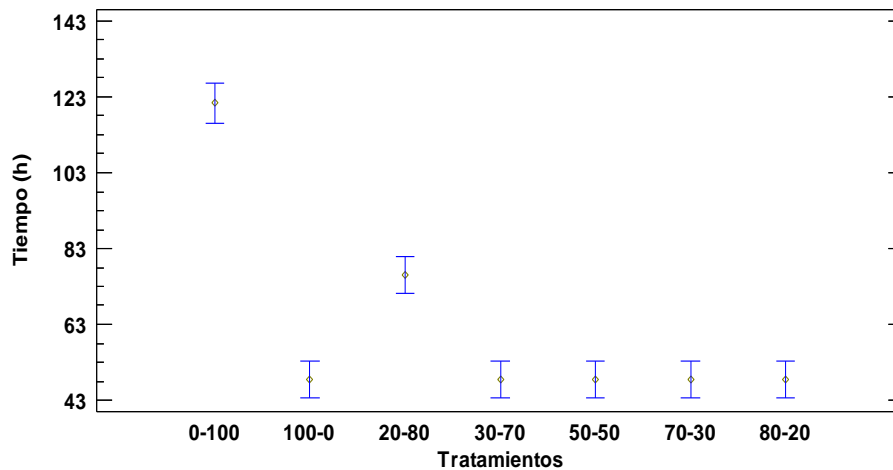


Figura 1: Prueba de Tuckey al 95% de confianza para la variación de proporciones de sustratos, T1(100% harina de caña de maíz - 0% harina de salvado de arroz), T2 (80% harina de caña de maíz -20% harina de salvado de arroz), T3 (70% harina de caña de maíz -30% harina de salvado de arroz), T4 (50% harina de caña de maíz -50% harina de salvado de arroz), T5 (20% harina de caña de maíz -80% harina de salvado de

arroz), T7 (0% harina de caña de maíz -70% harina de salvado de arroz), T5 (20% harina de caña de maíz -100% harina de salvado de arroz)

3.1.2 Evaluación sensorial

Para el análisis sensorial se utilizó 5 tratamientos, T1 (100% HC-0% HS), T2 (80% HC-20% HS), T3, (70% HC-30% HS), T4 (50% HC-50% HS), T6 (30% HC-70%), siendo HC: harina de caña de maíz , HS: harina de salvado de arroz. Todos ellos con su respectivo blanco los cuales no contaban con ningún tipo de fermentación.

En la **Tabla 4** se presenta el análisis de varianza, en donde se muestra que existen diferencias significativas ($p < 0.05$), en los 5 puntos (color, sabor, olor acidez y aceptabilidad). Sin embargo el mejor tratamiento en donde se acepta la mayoría de atributos, por parte de los panelistas fue en el T4 (50% harina de caña de maíz -50% harina de salvado de arroz con *Aspergillus orizae* tipo red), a excepción del color, en donde el mejor tratamiento fue el T2 (80% harina de caña de maíz -20% harina de salvado de arroz con *Aspergillus orizae* tipo red), sin embargo es un parámetro el cual está sujeto a otros como la acidez, debido a que de esta dependerá el color que tome la bebida. Los parámetro pH y acidéz juegan un papel importante tanto en el color, olor y sabor de productos fermentados, como también en la estabilidad microbiana de los mismos (**Tenorio et al., 2014**).

Tabla 4: Selección del mejor tratamiento mediante análisis de los diferentes tratamientos

Tratamientos	Atributos				
	Color	Sabor	Olor	Acidez	Aceptabilidad
T1	3,978±0,718 ^a	3,489±0,755 ^{ab}	2,444±0,879 ^b	1,622±0,486 ^b	3,511±0,677 ^{bc}
T2	4,022±0,729 ^a	3,444±0,842 ^{ab}	2,511±0,785 ^{ab}	1,756±0,695 ^{ab}	3,422±0,821 ^c
T3	3,622±0,765 ^b	3,556±0,923 ^{ab}	2,467±0,982 ^{ab}	1,778±0,613 ^{ab}	3,689±0,801 ^b
T4	3,000±0,724 ^c	3,644±0,729 ^a	2,689±0,750 ^a	1,911±0,527 ^a	4.00±0,882 ^a
T6	2,400±0,681 ^d	3,378±0,907 ^b	2,311±0,850 ^b	1,844±0,576 ^a	3,533±0,676 ^{bc}

a, b, c, Superíndices entre columnas, indican diferencias sigificativas al 95% de confianza

Mediante un perfil sensorial descrito en la **Figura 2**, también se puede evidenciar que el tratamiento con mayor puntuación en el parámetro de acidez fue el tratamiento T4 (50% harina de caña de maíz -50% harina de salvado de arroz con *Aspergillus orizae*

tipo red), este discernimiento entre tratamientos, se basó como se mencionó anteriormente, en que parámetros como la acidez son considerados como aquellos que nos se pueden modificar en el producto, y si se lo hacen con la adición de algún compuesto, pues variará otros parámetros ligados a este como el color, olor, sabor y aceptabilidad. Los atributos de color y olor se correlacionan con la acidez, estableciendo reacciones de los consumidores a los productos que presentan caracteres previamente definidos (Arrabal & Ciappini, 2000). Para los siguientes análisis se utilizó el tratamiento 4 (50% harina de caña de maíz -50% harina de salvado de arroz con *Aspergillus orizae* tipo red).

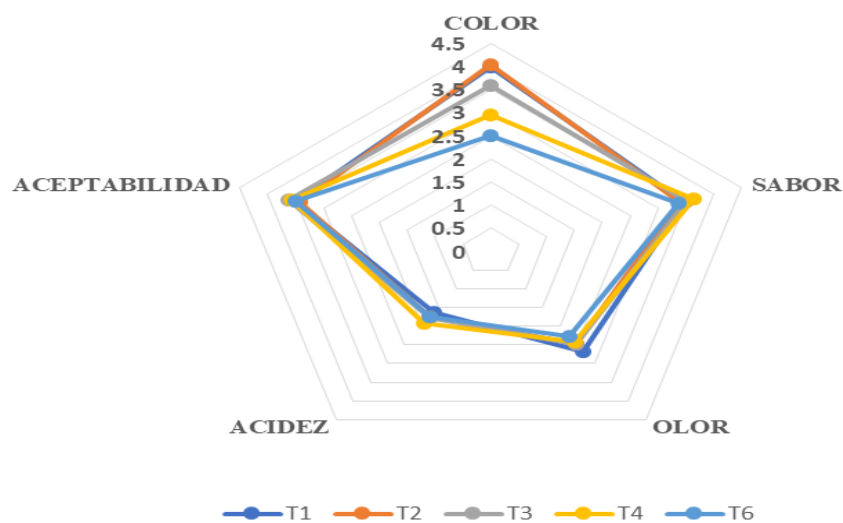


Figura 2: Perfil sensorial de control, T1(100% harina de caña de maíz - 0% harina de salvado de arroz), T2 (80% harina de caña de maíz -20% harina de salvado de arroz), T3 (70% harina de caña de maíz -30% harina de salvado de arroz), T4 (50% harina de caña de maíz -50% harina de salvado de arroz), T6 (30% harina de caña de maíz -70% harina de salvado de arroz)

3.1.3 Vida útil del mejor tratamiento

3.1.3.1 pH y acidez

En el transcurso del periodo de almacenamiento (11días) de T4 (50% harina de caña de maíz -50% harina de salvado de arroz con *Aspergillus orizae* tipo red), la acidez aumentó, mientras que el pH descendió, este cambio esta directamente relacionado con el proceso de metabolización de lactosa a ácido láctico (Velázquez, Covatzin, Toledo, & Vela, 2018).

El pH inicial del tratamiento T4 a temperatura ambiente y refrigeración fue de 6.57. El pH final de la bebida a temperatura ambiente alcanzó un valor de 4.8 el cual está

próximo a los estándares de la norma para leches fermentadas que debe ser menor a 4.55 (Agencia de Seguridad Alimentaria, 2010), mientras que el pH a temperatura de refrigeración llegó a un valor de 5.8 el cual se encuentra fuera de lo establecido en dicha norma (Figura 3). Cabe recalcar que dicho valor de pH no varió conforme el transcurso del tiempo, debido a las condiciones en que la bebida se encontraba (4°C), la cual no permitió que pH se reduzca. Además, se debió al número de días a los cuales se mantuvo la bebida (11 días), ya que a un número mayor de días de control, los *lactobacillus* inoculados en esta continuarían el proceso de fermentación, teniendo un valor de pH menor, llegando así a estar dentro de la norma establecida. Sin embargo, estudios similares en bebidas fermentadas con suero dulce de leche muestran pH de 5.83 (Linares et al., 2015), el cual coincide con el obtenido en este trabajo que es de 5.8.

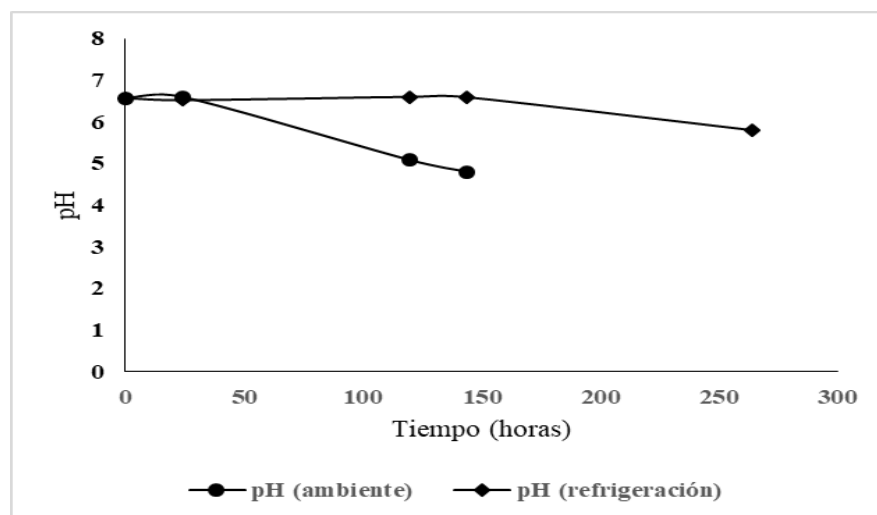


Figura 3: Variación del pH para la determinación de la vida útil a temperatura de refrigeración y ambiente

El análisis del pH para las dos temperaturas se realizó en 11 días, ajustándolas a una cinética de deterioro de orden 2 tanto para la temperatura de 4°C como de 25°C. El tiempo de vida útil estimado para la bebida a temperatura ambiente (25°C) fue de 7.3 días es decir de 7 días, mientras que para condiciones de refrigeración (4°C) fue de 49.67 días es decir 48 días (Tabla 5). Se observa que hay una significativa diferencia entre las dos temperaturas de estudio. A temperaturas de refrigeración hay poca

variación del pH, por lo tanto microorganismos como los *Lactobacillus* reducen su crecimiento, lo que permite que el proceso de fermentación sea muy lento, teniendo así pocos cambios en el contenido de probióticos y acidez titulable (Molero, Aiello, Araujo, & Briñez, 2017). Mientras que a temperatura ambiente se produce lo contrario, las bacterias acidolácticas se desarrollaran con mayor facilidad, debido a que se encuentran casi a su temperatura óptima de crecimiento (37°C) (Bazán & Vargas, 2007). Las bacterias lácticas como el *Lactobacillus bulgaris* llegan a disminuir el pH produciendo hasta un 2.7% de ácido láctico (Vega, 2013).

Tabla 5 : Tiempo de vida útil para el parámetro de pH

Temperatura (°C)	Orden de reacción (n)	Tiempo (días)
Ambiente (25 ± 1)	2	7
Refrigeración (4 ± 1)	2	48

El parámetro de la acidez inició con 0.15 % de ácido láctico a las dos temperaturas (Figura 4). Conforme pasaba el tiempo la acidez aumentaba considerablemente a temperatura ambiente llegando hasta 0.33% de ácido láctico, el cual se encuentra dentro de la norma para bebidas fermentadas donde el valor de acidez debe llegar hasta un 0.3% (CODEX STAN 243); mientras que a temperatura de refrigeración la acidez llegó hasta un máximo de 0.20% de ácido láctico, estando también dentro de dicha norma.

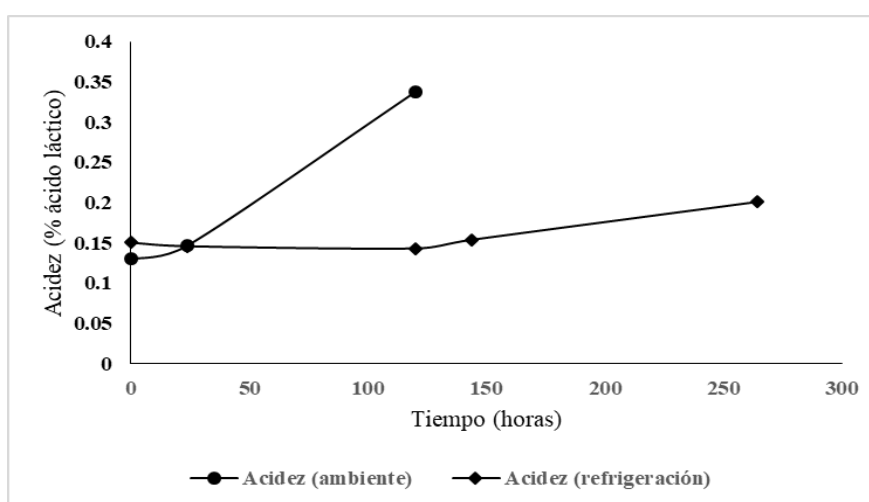


Figura 4: Variación de la acidez para la determinación de la vida útil a temperatura de refrigeración y ambiente

El análisis de acidez se realizó en un periodo de 11 días de almacenamiento, por cada temperatura (4 y 25°C) se observó un ascenso de esta en diferentes tiempos, la bebida a temperatura de ambiente (25°C) se ajustó a una cinética de deterioro de orden uno, obteniendo una estimación de 5.86 días es decir 6 días aproximadamente, mientras que a condiciones de refrigeración (4°C) se ajustó a una cinética de deterioro de orden cero, obteniendo una estimación de 45.38 días es decir 45 días aproximadamente (**Tabla 6**). Al igual que el pH la acidez en condiciones de refrigeración tampoco varió significativamente sus valores, debido a que a estas temperaturas los *Lactobacillus* tardará mucho en desarrollarse, ya que la temperatura óptima de crecimiento de estos ronda entre los 30 y 37°C (**Bazán & Vargas, 2007**), mientras que a temperatura ambiente sucedió lo contrario la acidez aumentó considerablemente en un periodo de tiempo corto, por el desarrollo rápido de dichos microorganismos.

Tabla 6 Tiempo de vida útil para el parámetro de acidez

Temperatura (°C)	Orden de reacción (n)	Tiempo (días)
Ambiente (25 ± 1)	1	6
Refrigeración (4 ± 1)	0	45

La mayoría de bebidas fermentadas de marcas comerciales tienen una vida útil de aproximadamente 25-30 días (**Vega, 2013**), encontrándose tanto el tiempo estimado de vida útil para pH y acidez dentro de este rango.

3.1.3.2 Análisis Microbiológico

Los resultados obtenidos se realizaron solo para el tratamiento 4 (50% HC-50% HS; *Aspergillus orizae* tipo red), por duplicado y a dos temperaturas (4 y 25°C). En la **Tabla 7** se observa que la bebida de harina de caña de maíz y harina de salvado de arroz con doble fermentación (sólida y líquida) cumple con los parámetros microbiológicos establecidos de la norma **NTE INEN 2564** para bebidas fermentadas, demostrando que la bebida se realizó con todas las condiciones higiénicas controladas, teniendo así un producto inocuo.

Tabla 7: Resultados microbiológicos para la bebida fermentada T4 (50% HC-50% HS con *Aspergillus orizae* tipo red)

Parámetros microbiológicos	Requisitos de la Norma INEN 2564		Días	T4 (50% HC-50% HS con <i>Aspergillus orizae</i> tipo red)
Recuentos de coliformes totales (UFC/mL)	<1	10	0	Ausencia
			3	Ausencia
			4	Ausencia
			5	Ausencia
			11	Ausencia
<i>Listeria monocytogenes</i> (UFC/mL)	Ausencia	-	0	Ausencia
			3	Ausencia
			4	Ausencia
			5	Ausencia
			11	Ausencia
Recuento de <i>Escherichia coli</i> (UFC/mL)	<1	-	0	Ausencia
			3	Ausencia
			4	Ausencia
			5	Ausencia
			11	Ausencia

El recuento de aerobios mesófilos se muestra en la **Figura 5**, el crecimiento fue notorio especialmente a temperaturas de 25°C, a esta temperatura el crecimiento fue mayor llegando a obtener colonias incontables (>300) en los días 4 y 5, estos microorganismos no poseen un hábitat definido y pueden crecer en cualquier medio, especialmente en alimentos fermentados, obteniendo grandes cantidades de ellas (**Salgado & Víctor, 2002**), mientras que a temperaturas de 4°C tan solo en el día 4 se obtuvieron colonias contables (<30), este bajo crecimiento se debe que a bajas temperaturas el crecimiento de microorganismos disminuye considerablemente (**Salvadori, 1994**). En los días 5 y 11 la bebida presentó ausencia de mesófilos en las dos temperaturas, estudios demuestran, que cultivos de aerobios mesófilos disminuyen a medida que transcurre el tiempo de análisis de una bebida fermentada, ya que un incremento de acidez, la producción de peróxido de hidrógeno producido por algunos

Lactobacillus, la composición del producto, la presencia de preservativos y el antagonismo entre microorganismos por la producción de sustancias antimicrobianas, hacen posible el descenso de microorganismos (Uribe, Valencia, Monzón, & Suescún, 2008).

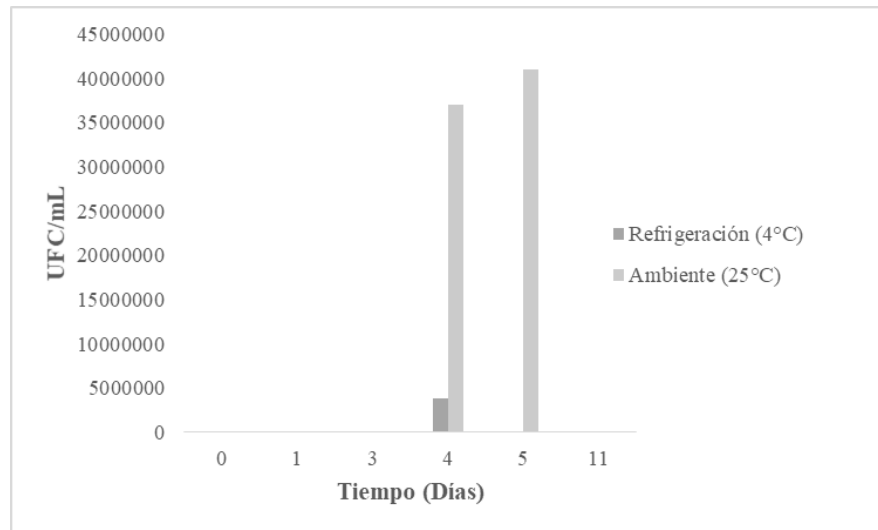


Figura 5 : Recuento de aerobios mesófilos para el tratamiento 4 (50% harina de caña de maíz - 50% harina de salvado de arroz; *Aspergillus orizae* tipo red)

3.1.4 Análisis Proximal

Los resultados del análisis proximal se muestran en la **Tabla 8**, donde los resultados se muestran cercanos a datos encontrados en bibliografías, (NTE INEN 2608, 2012; Hannibal et al., 2015; Escobar, 2019). Estas diferencias se debe a que las matrices utilizadas en la elaboración de la bebidas fermentadas de otros autores, no son iguales a las matrices empleadas en esta investigación.

La proteína obtenida en la bebida fue de 0.714 % (Nx6.25) esta cantidad fue obtenida por cada 100mL del la bebida, la cual no se encuentra dentro de la norma para bebidas lácteas fermentadas (NTE INEN 2608, 2012), ya que el requisito mínimo es de 1.6%. Sin embargo estudios similares en la elaboración de bebidas fermentadas reportan valores de 0.96% (Hannibal et al., 2015), considerando al valor de la bebida dentro de este.

Debido a los datos bibliográficos reportados, la bebida no posee un alto valor nutricional, y esto se debe a que solo el suero fue quién aportó la calidad proteica a la

bebida ya que las harinas (salvado de arroz y caña de azúcar), no contribuyeron significativamente al aporte, debido a que estas en su estructura tienen una mayor concentración de fibra dietética y carbohidratos (**Treviño et al., 2011**).

La fermentación también fue un factor significativo en la cantidad de proteína obtenida, ya que la acidificación del suero de leche conlleva al rompimiento de las propiedades estructurales internas de la proteína (**Almendáriz, 2012**), es decir que a mayor fermentación, menor será el contenido de proteínas en la bebida.

Los microorganismos también interfieren en la estabilidad de la proteína, ya que las bacterias ácido lácticas como por ejemplo el *Lactobacillus bulgaris* que es una bacteria proteolítica, produce hidrolasas las cuales hidrolizan las proteínas (**Vega, 2013**). La hidrólisis consta de dos etapas la primera es la desnaturalización y la segunda que es la degradación de las proteínas, esta última es la que está asociada a la pérdida de la actividad proteica (**Falcón Almeida et al., 2014**).

Por otra parte el porcentaje de humedad que fue de 90.2% y cenizas 0.54%, concuerdan con estudios de (**Hannibal et al., 2015**), obteniendo una humedad de 95.48% y cenizas de 0.55%, el porcentaje de fibra obtenido fue de 1% el cual está por debajo de estudios similares con bebidas fermentadas el cual llega a obtener 2.28% (**Escobar, 2019**). El porcentaje de carbohidratos fue considerable (6.1%) los cuales se encuentran por encima de datos bibliográficos, (2.36%) (**Escobar, 2019**), sin embargo este alto contenido en carbohidratos ayuda al aporte calórico, ya que contiene lactosa como carbohidrato principal compensando a la baja cantidad de grasas y proteínas en la bebida, aumentando significativamente la cantidad de kilocalorías (**Valencia, Flórez, & Álvarez, 2002**). Respecto al contenido de grasa (1.41%) está dentro del parámetro que corresponde a la norma de bebidas de leche fermentadas (**NTE INEN 2608, 2012**), ya que esta debe de tener como máximo 3.0%.

La disminución del porcentaje de nutrientes en la bebida se debe a que el hongo utilizado (*Aspergillus orizae*) en la fermentación sólida, utilizó a estos como fuente de energía y biosíntesis para el desarrollo del mismo, ya que en este tipo de fermentación el material o el medio sólido junto con el agua actúa simultáneamente como fuentes de nutrientes y soporte de crecimiento del hongo (**Sánchez, 1999**). Además las cepas de *Aspergillus orizae* tiene la propiedad de utilizar los polímeros de

diversos desechos o medios utilizando para su crecimiento como los del salvado de arroz, el cual fue una de las harinas utilizadas en el desarrollo de la bebida (Escobar, 2019).

Tabla 8: Resultados del análisis proximal para la bebida fermentada T4 (50% HC-50% HS con *Aspergillus orizae* tipo red)

Análisis proximal	T4 (T4 (50% harina de caña de maíz -50%) (%))	Datos bibliográficos (%)
Fibra	1	2.28
Proteína	0.714	0.96-1.6
Cenizas	0.54	0.55
Humedad	90.2	95.48
Grasa	1.41	Max 3
Carbohidratos	6.136	2.36

3.1.5 Análisis del perfil de ácidos grasos

En la **Figura 6** se presenta los ácidos grasos encontrados en la bebida, mostrando un 64.24% de estos, de los cuales el que mayor predomina es el ácido palmítico (C16:0) con un 34.62%, seguido del ácido esteárico (C:18) con un 12.65%, lo restante corresponde a porcentajes menores como el ácido tridecanoico (C13:0) 8.97%, ácido láurico (C12:0) 2.26%, ácido cáprico (C10:0) 1.93%, ácido mirístico (C14:0) 1.04%, ácido pentadecílico (C15:0) 0.95%, ácido caprílico (C8:0) 0.77%, ácido margárico (C17:0) y ácido caprónico (C6:0), 0.5%. Estudios similares en bebidas fermentadas dan un porcentaje de ácido palmítico entre 19 a 28% el cual es menor para el obtenido en esta investigación (34.62%), mientras que para el ácido esteárico dan un porcentaje de entre 11-16% (Marlen & Ortiz, 2016), el cual es similar al obtenido (12.65%). Esta representativa cantidad de ácidos grasos en la bebida, se debe a que gran parte de la grasa láctea es muy variada ya que se puede llegar a encontrar más de 400 ácidos grasos diferentes, de los cuales un 65% son ácidos grasos saturados (Osorio García, 2010). Este contenido de ácidos grasos se consideran un poco perjudiciales, pero no es del todo cierto ya que solo ácidos grasos de cadenas C12:0, C14:0 y C16:0 pueden ser considerados desfavorables si se consumen de forma excesiva, mientras que los demás

como el ácido cáprico C10:0 no tienen efecto en el colesterol en la sangre (Parodi, 1977).

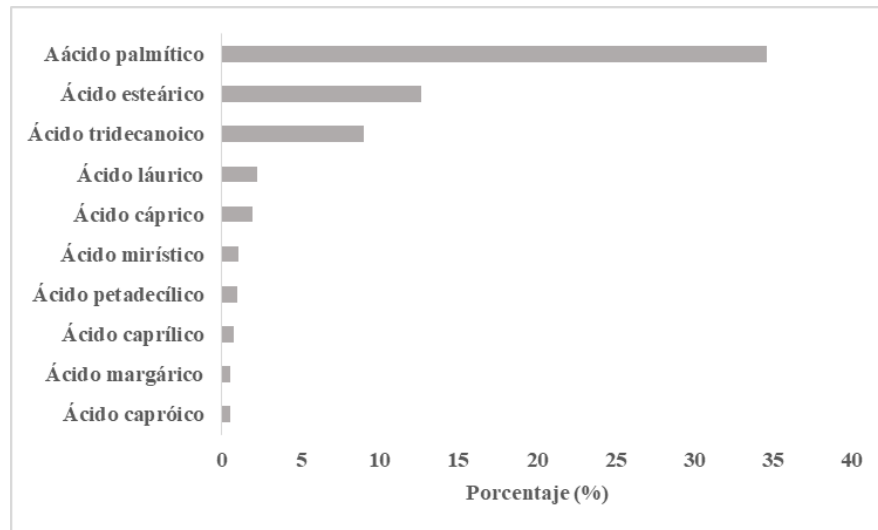


Figura 6: Perfil de ácidos grasos saturados en la bebida con doble fermentación

La fracción de ácidos grasos monoinsaturados (**Figura 7**), representan un 33.49%, siendo el que predomina el ácido oleico (C18:1n-9) con un 32.35%, y el ácido palmitoléico (C16:1n-7) con un 1.14%. Según (Marlen & Ortiz, 2016), el porcentaje de ácido palmitoléico en bebidas fermentadas lácteas es de 0.7 a 1.1%, mientras que el porcentaje de ácido oleico es de 19 a 26%, siendo este menor a la cantidad obtenida de la bebida. Sin embargo este es un punto a favor en la bebida ya que este tipo de ácidos grasos, traen beneficios a la salud previniendo enfermedades, ya que una dieta rica en ácidos grasos monoinsaturados o poliinsaturados ocasiona una disminución del colesterol plasmático, como el colesterol LDL (Aguilera, Tortosa, Mesa, & Gil, 2001). Estudios también corroboran que el ácido oleico es muy efectivo para reducir el colesterol plasmático (Osorio García, 2010).

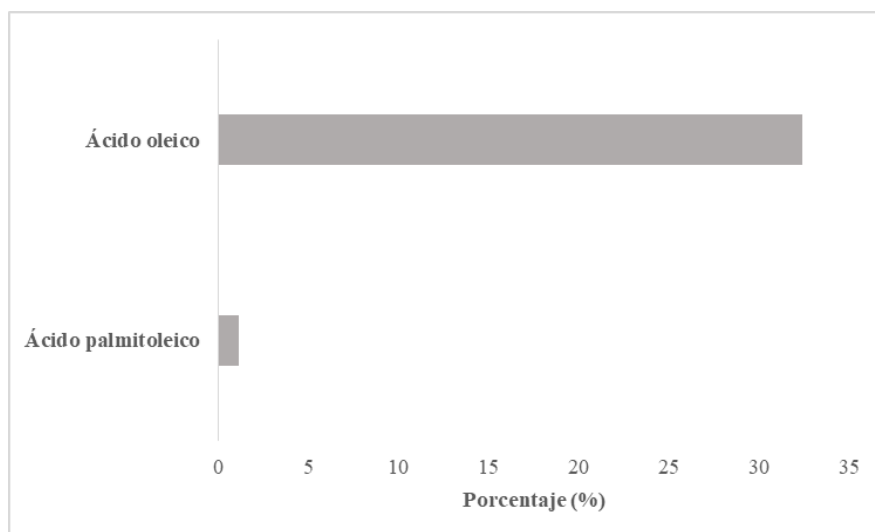


Figura 7: Perfil de ácidos grasos monoinsaturados en la bebida con doble fermentación

La última fracción de ácidos grasos poliinsaturados se muestra en la **Figura 8**, con un porcentaje total del 2.26%, el cual es bajo con respecto a los demás ácidos, de los cuales el predominante es el ácido linoleico (C18:2 n-6) con 1.74% seguido por el ácido linolénico (C18:3 n-3) con 0.52% sin embargo estudios recomiendan una ingesta diaria mínima de ácido linoleico y linolénico de 0.50 a 1% (**Ortega, 2002**), su deficiencia puede afectar negativamente a las funciones celulares y en ocasiones puede conducir hasta la muerte (**Hinzpeter, Shene, & Masson, 2006**). Estos ácidos grasos insaturados llamados también omega 3 (ácido linolénico) y omega 6 (ácido linoleico) juegan un papel muy indispensable en el organismo humano ya que estos no se los puede biosintetizar, de ahí la importancia de incluirlos en la dieta (**Ortega, 2002**), también son muy reconocidos en la salud cardiovascular, aportando así sus potencialidades biológicas de la grasa láctea (**Osorio García, 2010**).

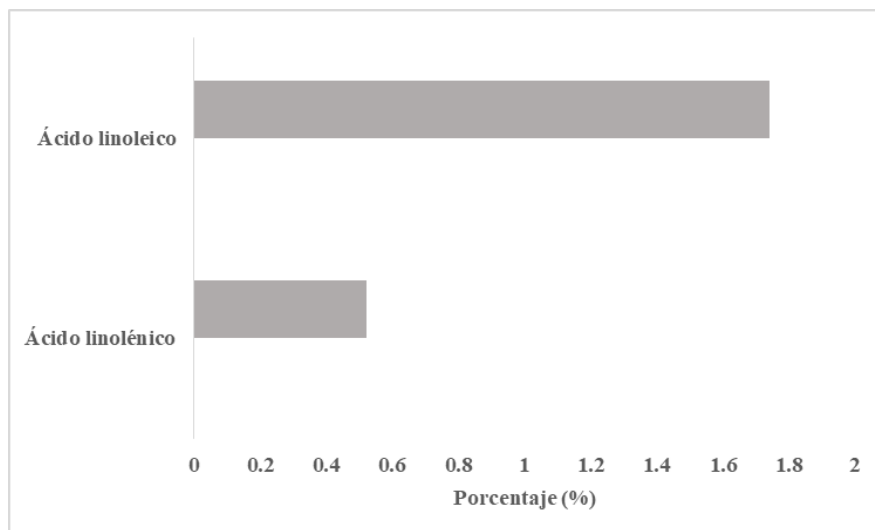


Figura 8: Perfil de ácidos grasos poliinsaturados en la bebida con doble fermentación

3.1.6 Verificación de la Hipótesis

Mediante el análisis estadístico ANOVA de cada ensayo realizado con un nivel de confianza del 95%, se rechaza la hipótesis nula ya que existe diferencias significativas en cada una de las proporciones de harina utilizada en cada tratamiento, concluyendo que después de haber realizado todos los análisis respectivos al mejor tratamiento T4 de la bebida fermentada a base de caña de maíz y salvado de arroz, se acepta la hipótesis alternativa, debido a que los dos experimentos realizados con las mezclas de harina en diferentes proporciones influyen directamente en el análisis sensorial y proximal, especialmente en valores de proteína, grasa y fibra.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 CONCLUSIONES

- Se desarrolló una bebida a base de harina de caña de maíz y salvado de arroz con doble fermentación, la primera fermentación (sólida), tuvo una duración de 48 horas y la segunda (líquida), tuvo una duración de 4 horas.
- Se determinó la mezclas adecuada de las harinas siendo las mejores T1(100% harina de caña de maíz - 0% harina de salvado de arroz), T2 (80% harina de caña de maíz -20% harina de salvado de arroz), T3 (70% harina de caña de maíz -30% harina de salvado de arroz), T4 (50% harina de caña de maíz -50% harina de salvado de arroz), T6 (30% harina de caña de maíz -70% harina de salvado de arroz), debido a que estas presentaron menor tiempo de fermentación sólida respecto a las demás mezclas.
- Se evaluó las características organolépticas de los 5 tratamientos llegando a ser el mejor aceptado el T4 (50% harina de caña de maíz y 50% de harina de salvado de arroz), debido a que este presentó una mayor aceptabilidad y acidez frente a los demás tratamientos.
- Se evaluó la calidad de la mejor bebida (T4) por medio del análisis proximal en donde se obtuvo un 90.2% de humedad, 0.54% de cenizas, 1% de fibra dietética, 0.714% de proteína 1.14% de lípidos 6.409% de carbohidratos.
- Durante 11 días se realizó el estudio de vida útil por medio de los parámetros de pH y acidez. Para la determinación de la vida útil por medio del parámetro de pH se ajustó a una cinética de deterioro de orden dos para las dos temperaturas (4 y 25°C), estimando una vida útil para 4°C es de 48 días y para 25°C es de 7 días, mientras que para la determinación de la vida útil por medio del parámetro de acidez se ajustó a una cinética de deterioro de orden cero para 4°C, estimando una vida útil de 45 días y de orden uno para 25°C, estimando una vida útil de 6 días.

4.2 RECOMENDACIONES

- Se recomienda ampliar estudios sobre este tipo de bebidas sobre todo en las matrices utilizadas, especialmente de la caña de maíz ya que existen pocos estudios sobre su contenido nutricional para humanos.
- Se recomienda el uso de un suero fresco e inocuo para la elaboración de bebidas fermentadas, con el fin de no alterar su pH obteniendo así un producto ácido y con mayor aceptabilidad.
- Para una correcta estimación de la vida útil del producto se recomienda utilizar el método de la cinética química por medio de la ecuación de Arrhenius.

MATERIAL DE REFERENCIA
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agencia de Seguridad Alimentaria. (2010). LECHES FERMENTADAS: ASPECTOS NUTRITIVOS, TECNOLÓGICOS Y PROBIÓTCOS MÁS RELEVANTES.
- Aguilera, C., Tortosa, R., Mesa, M., & Gil, Á. (2001). Efectos protectores de los ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados sobre el desarrollo de la enfermedad cardiovascular. *Nutr. hosp*, 78-91.
- Almendáriz, C. (2012). *Desarrollo de una bebida fermentada saborizada de soya*. Quito: USFQ, 2012. Retrieved from <http://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/3858/1/102286.pdf>
- Amador, A. L., & Boschini, C. (2000). Fenología productiva y nutricional de maíz para la producción de forraje. *Agronomía Mesoamericana*, 11(1), 171-177.
- AOAC 2001.11. (2001). Protein Crude in Animal Feed, Forage (Plant Tissue), Grain, and Oilseeds. from <https://edoc.site/4211-aoac-official-method-200111-proteincrudein-animal-feed-pdf-free.html>
- AOAC 996.06. (2001). Hydrolytic Extraction Gas Chromatographic Method. from <https://www.coursehero.com/file/31058243/AOAC-99606-fatpdf/>
- Arrabal, M. V., & Ciappini, M. C. (2000). Prueba de aceptabilidad en miel. *Invenio: Revista de investigación académica*(4), 141-147.
- Bazán, J. V., & Vargas, C. T. (2007). Aislamiento de Lactobacillus nativos de productos de fermentación en la ciudad de Tacna. *Ciencia & desarrollo*(11), 61-66.
- CODEX STAN 243. NORMA DEL CODEX PARA LECHES FERMENTADAS. Cordero, G. (2017). Análisis Sensorial de los Alimentos. Madrid. *Salamanca, España. AMV Ediciones*.
- Díaz, J. D. (2016). Desarrollo de una masa para pizza enriquecida con fibra, proveniente del salvado de arroz generado como subproducto durante el procesamiento del grano de arroz entero.
- Escobar, A. (2019). *Desarrollo de una bebida a base de harina de amaranto (Amaranthus hypochondriacus) y salvado de arroz (Oryza sativa) con fermentación sólida y sumergida*. (Investigación), Universidad Técnica de Ambato.

- Escudero, Á., & González, S. (2006). La fibra dietética. *Nutrición hospitalaria*, 21, 61-72.
- Falcón Almeida, Y., Quesada Leyva, L., Sosa Mendoza, O., Fernández Torres, S., Ruiz Hunt, Z., & García Chaviano, L. (2014). Estabilidad de un suero control para proteínas totales como controlador bioquímico en los laboratorios clínicos. *Revista Archivo Médico de Camagüey*, 18(4), 401-414.
- FAO. (1993). MANUAL DE TÉCNICAS PARA LABORATORIO DE NUTRICIÓN.
- Gaitán-Hernández, R. (2005). Evaluación in vitro del hongo comestible *Pleurotus eryngii*: Efecto de diferentes suplementos orgánicos en el crecimiento micelial y producción de cuerpos fructíferos. *Revista mexicana de micología*(21), 77-84.
- García, S. L. Q., & Salcedo, L. O. G. (2006). Uso de fibra de estopa de coco para mejorar las propiedades mecánicas del concreto. *Ingeniería y Desarrollo*(20), 134-150.
- Gómez, S. (2001). *Producción de Invertasa por A, spergillus niger en Fermentación Líquida y Fermentación Sólida*. UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA. Retrieved from <http://148.206.53.84/tesiuami/UAM2828.pdf>
- Hannibal, B., Santillán, A., Mercy, A., Ramos, E., Paola, V., & Rincon, A. (2015). Aprovechamiento del suero de leche como bebida energizante para minimizar el impacto ambiental. *European Scientific Journal*, 11(26).
- Hernandez, L. A. M. (2007). *Diseño y evaluación de una bebida funcional en base a cranberry prebiótico y probiótico*. Universidad de Chile.
- Hernández, R., & Vélez, R. (2014). Suero de leche y su aplicación en la elaboración de alimentos funcionales. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, 8(2), 13-22.
- Hinzpeter, I., Shene, C., & Masson, L. (2006). Alternativas biotecnológicas para la producción de ácidos grasos poliinsaturados omega-3.
- Linares, G., Díaz-Sánchez, L., Haro, R., Puellas, J., Arana, L., Retto, P., . . . Ricce, C. (2015). Efecto de las diferentes proporciones de pulpa de frutas cítricas en la aceptabilidad sensorial de una bebida fermentada y proteica elaborada a partir de lactosuero residual. *Agroindustrial Science*, 4(2), 65-73.
- Marlen, A., & Ortiz, A. (2016). *Elaboración de una bebida láctea fermentada enriquecida naturalmente con ácidos grasos esenciales*. Universidad Nacional de Colombia-Sede Bogotá. Retrieved from <http://www.bdigital.unal.edu.co/52991/1/angelamarlenamayaortiz.2016.pdf>

- Molero, M., Aiello, C., Araujo, J., & Briñez, W. (2017). CALIDAD FISICO-QUIMICA, MICROBIOLÓGICA Y VIDA ÚTIL DE BEBIDAS PROBIÓTICAS FERMENTADAS A BASE DE LACTOSUERO. *Revista Científica*, 27(5), 265-269.
- NTE INEN 1087. (1984). *Bebidas gaseosas. Determinación del pH. 1087.*
- NTE INEN 0013. (1984). *Norma Técnica Ecuatoriana: Leche, determinación de acidez titulable. 1091.*
- NTE INEN 2564. (2019). *Bebidas lácteas. Requisitos. 2564, 5.*
<https://doi.org/https://ia801906.us.archive.org/29/items/ec.nte.2564.2011/ec.nte.2564.2011.pdf>
- NTE INEN 2608. (2012). *Bebida de leche fermentada. Requisitos. Requisitos, 2608.*
 Retrieved from
<https://ia801901.us.archive.org/8/items/ec.nte.2608.2012/ec.nte.2608.2012.pdf>
- NTE INEN ISO 2446. (2013). *LECHE-DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE GRASA (IDT).*
- NTE INEN ISO 5537. (2014). *LECHE EN POLVO. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD (MÉTODO DE REFERENCIA) (ISO 5537:2004, IDT).*
- Núñez, M. (2013). Métodos de Estimación de la vida útil en los alimentos. *Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia*, 31.
- Ortega, R. (2002). Importancia de las grasas en la alimentación. *Departamento de Nutrición: Facultad de Farmacia, Universidad Complutense, Madrid*, 2-17.
- Osorio García, J. A. (2010). *Influencia de diferentes cepas probióticas y el tiempo de fermentación en el contenido de ácido linoléico conjugado y el perfil de ácidos grasos durante el almacenamiento del kumis elaborado con dos sustratos diferentes.* Universidad Nacional de Colombia. Sede Medellín. Retrieved from <http://bdigital.unal.edu.co/3680/1/75083238.2011.pdf>
- Parodi, P. (1977). Conjugated octadecadienoic acids of milk fat. *Journal of Dairy Science*, 60(10), 1550-1553.
- Pastrana, L. (1996). Fundamentos de la fermentación en estado sólido y aplicación a la industria alimentaria. *CYTA-Journal of Food*, 1(3), 4-12.
- Romero, G., & Fajardo, M. (2016). *Uso de suero para la obtención de una bebida láctea fermentada.* (Ingeniero en Alimentos Investigación), Escuela Superior Politécnica del Litoral. Retrieved from <https://www.dspace.espol.edu.ec/retrieve/91693/D-CD88250.pdf>

- Roussos, S., & Perraud-Gaime, I. (1996). Fisiología y bioquímica de microorganismos utilizados en procesos de fermentación en medio sólido. *Fonds documentaire ORSTIM*.
- Rozo Bernal, C. (2002). Ciencia e ingeniería de alimentos: el cambio en la historia. *Revista de la Universidad de La Salle*, 2002(33), 81-91.
- Ruíz, H., Rodríguez, R., Contreras, J., & Aguilar, C. (2007). Diseño de biorreactores para fermentación en medio sólido. *Revista Mexicana de ingeniería química*, 6(1), 33-40.
- Salgado, Z., & Víctor, R. (2002). *Análisis de mesófilos aerobios, mohos y levaduras, coliformes totales y Salmonella spp. en cuatro ingredientes utilizados en la planta de lácteos de Zamorano, Honduras*. Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2013. Retrieved from <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/1553/1/AGI-2002-T036.pdf>
- Salvadori, V. O. (1994). *Transferencia de calor durante la congelación, el almacenamiento y la descongelación de alimentos*. Facultad de Ingeniería. Retrieved from http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/1449/Documento_completo.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Sánchez, V. (1999). *Producción de proteasas fúngicas por fermentación en estado sólido para su aplicación en la industria de alimentos*. Tesis de Grado). Universidad de Buenos Aires, 22. Retrieved from https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/download/tesis/tesis_n3218_Sanchez.pdf
- Tenorio, D., Inmaculada, A., Prádena, J., García, M., Pérez, M., Redondo, A., . . . Zapata, A. (2014). El Vino y su Análisis. *Subvencionado por el Proyecto de innovación Educativa y mejora de la calidad docente UCM*, 76.
- Torres, A. (2006). Producción de metabolitos insecticidas por *Paecilomyces fumosoroseus* en fermentación líquida y sólida: Obtenido de <http://148.206>.
- Treviño, J., Hernández, M., & Caballero, R. (2011). Estudio del valor nutritivo de las hojas y tallo del maíz híbrido de tallo azucarado E-10. *Pastos*, 4(2), 286-292.
- Uribe, M. M. L., Valencia, J. U. S., Monzón, A. H., & Suescún, J. E. P. (2008). Bebida fermentada de suero de queso fresco inoculada con *Lactobacillus casei*. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 61(1), 4409-4421.
- Valencia, J. U. S., Flórez, L. E. F., & Álvarez, C. M. P. (2002). Utilización de lactosuero de queso fresco en la elaboración de una bebida fermentada con adición de pulpa maracuyá (*passiflora edulis*) variedad púrpura y carbóximetil celulosa (cmc), enriquecida con vitaminas A y D. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 55(2), 1633-1674.

- Vargas, E. M., & Aguirre, M. (2011). *El salvado de arroz: procesos de estabilización y usos potenciales en la industria colombiana*: Universidad Jorge Tadeo Lozano.
- Vega, G. S. (2013). *Elaboración y Control de Calidad de una Bebida a Base de Suero de Leche y Avena (Avena sativa) para PRODUCCOOP El Salinerito*. Retrieved from <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2600/1/56T00377.pdf>
- Vela, G., Castro, M., Caballero, R., & Ballinas, D. (2012). Bebida probiótica de lactosuero adicionada con pulpa de mango y almendras sensorialmente aceptable en adultos mayores. *ReCiTeIA*, 11(2), 10-20.
- Velázquez, A., Covatzin, D., Toledo, M. D., & Vela, G. (2018). Bebida fermentada elaborada con bacterias ácido lácticas aisladas del pozol tradicional chiapaneco. *CienciaUAT*, 13(1), 165-178.
- Watts, B. M., Ylimaki, G., Jeffery, L., & Elías, L. (1992). *Métodos sensoriales básicos para la evaluación de alimentos*: CIID, Ottawa, ON, CA.

ANEXOS

Cromatogramas de perfil de ácidos grasos

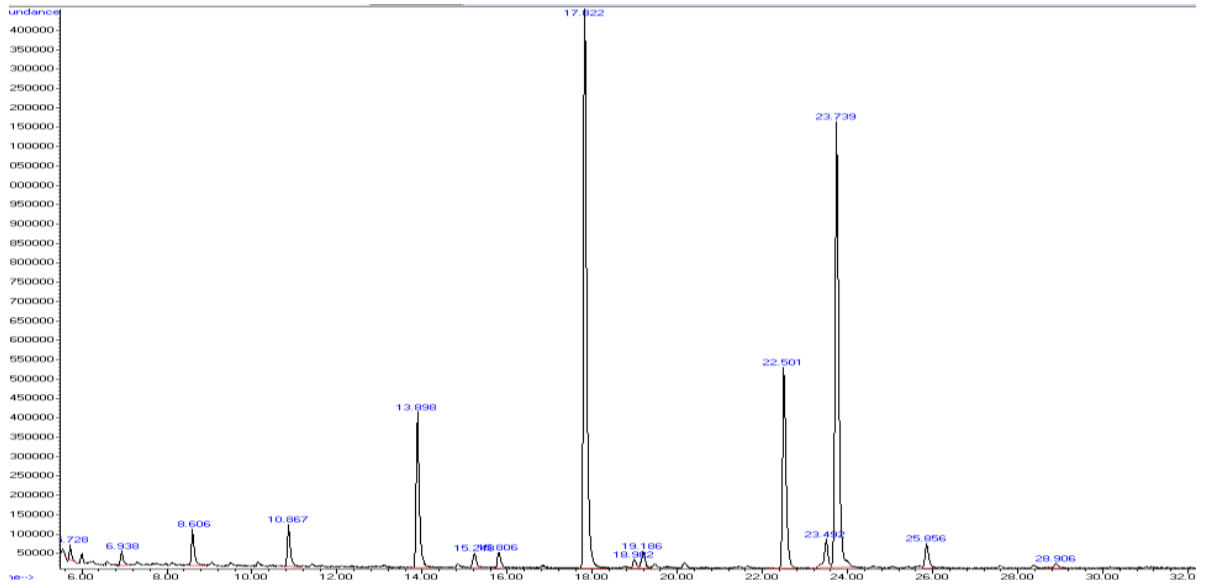


Figura 9: Perfil cromatográfico de ácidos grasos tratamiento 4 (primera réplica)

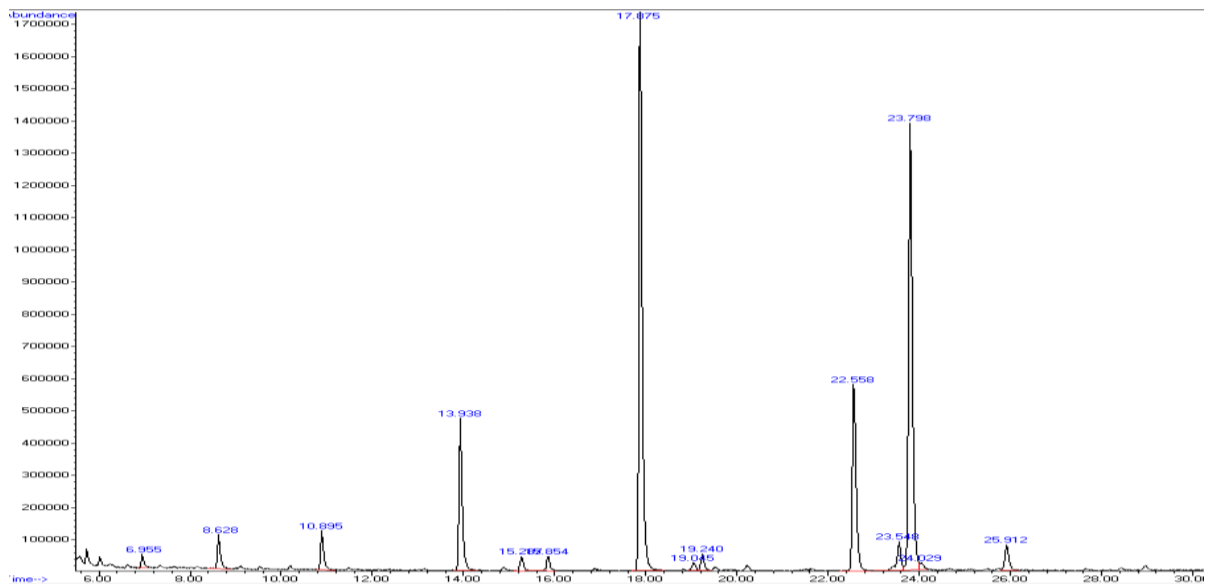


Figura 10: Perfil cromatográfico de ácidos grasos tratamiento 4 (segunda réplica)

Tabla 9: Descripción del perfil de ácidos grasos para el tratamiento 4 (primera y segunda réplica)

Tratamiento 4 R1					Tratamiento 4 R2			
Número de pico.	Tiempo de retención	Nombre trivial	Número lipídico	% Area	Tiempo de retención	Nombre trivial	Número lipídico	%Area
1	5.728	Ácido caproico	C6:0	0.50	-	-	-	-
2	6.938	Ácido caprílico	C8:0	0.77	6.955	Ácido caprílico	C8:0	0.62
3	8.606	Ácidocáprico	C10:0	1.93	8.628	Ácido cáprico	C10:0	1.85
4	10.867	Ácido láurico	C12:0	2.26	10.895	Ácido láurico	C12:0	2.19
5	13.898	Acido tridecanoico	C13	8.97	13.938	-	-	8.89
6	15.248	Ácido mirístico	C14:0	1.04	15.287	Ácido mirístico	C14:0	0.98
7	15.806	Ácido Pentadecílico	C15:0	0.95	15.854	-	-	0.92
8	17.822	Ácido palmítico	C16:0	34.62	17.875	Ácido palmítico	C16:0	34.90
9	18.982	Ácido margárico	C17:0	0.55	--	-	--	
10	19.186	Ácido palmitoleico	C16:1 n-7	1.14	19.045	Ácido palmitoleico	C16:1 n-7	0.52
11	22.501	Ácido esteárico	C18:0	12.65	22.558	Ácido estearico	C18:0	12.74
12	23.492				23.548			
13	23.739	Ácido oleico	C18:1 n-9	32.35	23.798	Ácido oleico	C18:1 n-9	33.45
	-	-	-	-	24.029			

14	25.856	Ácido linoleico	C18:2 n-6	1.74	25.912	Ácido linoleico	C18:2 n-6	1.88
15	28.906	Ácido linolénico	C18:3 n-3	0.52	-	-	-	-