

UNIVERSIDAD PERUANA UNIÓN

FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA

Escuela profesional de Ingeniería de Alimentos



Una Institución Adventista

**“DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS PARA LA
ELABORACIÓN DE BEBIDA PROBIÓTICA DE TARWI (*Lupinus
mutabilis* Sweet) EMPLEANDO *Saccharomyces boulardii*”**

Tesis presentada para optar el título profesional de Ingeniero de
Alimentos

Por

Bach. Edith Jessica Colque Cruz

Asesor

Ing. Alex Danny Chambi Rodriguez

Juliaca – Perú

2016

Ficha catalográfica elaborada por el Centro de Recursos para el Aprendizaje y la Investigación – CRAI – de la UPeU

TIA Colque Cruz, Edith Jessica
2 Determinación de parámetros para la elaboración de bebida probiótica de tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) empleando *Saccharomyces boulardii*, Juliaca-2016 / Autor: Edith Jessica
C75 Colque Cruz; Asesor: Ing. Alex Danny Chambi Rodriguez. -- Juliaca, 2016.
2016 80 hojas: figuras, tablas

Tesis (Licenciatura)--Universidad Peruana Unión. Facultad de Ingeniería y Arquitectura. EP. de Ingeniería de Alimentos, 2016.
Incluye referencias y resumen.
Campo del conocimiento: Ingeniería de Alimentos.

1. Fermentación 2. Probiótico 3. Parámetros. I. Colque Cruz, Edith Jessica, autora.

CDD 641.3

Referencias

Este trabajo de investigación ha hecho uso del estilo de redacción APA sexta edición 2016, salvo por algunas adaptaciones propias de la E.P. de Ingeniería de Alimentos de la UPeU-Juliaca.

Dedicatoria

Esta tesis va dedicada a Dios quien supo guiarme y prepararme cada tiempo, dándome fuerzas y perseverancia frente a los problemas y sabiduría frente a dificultades mostrándome su camino cierto.

A mis padres: Felipe e Isabel quienes me apoyaron económicamente y emocionalmente e inspiraron a seguir y cumplir mis metas, a mis hermanos Jesús, Luz, Estefany por su apoyo emocional y confianza, me dieron todo como persona.

Agradecimientos

A Dios mi creador por guiarme y darme la sabiduría para realizar este trabajo, por darme la valentía para llegar hasta aquí.

A mi familia por su apoyo incondicional y por el ánimo alentador de seguir adelante y hacer el sueño realidad.

A mi estimado Orientador Ing. Alex Danny Chambi Rodriguez, por su orientación para la conclusión de este proyecto de investigación.

Al MgSc. Daniel Sumire Quenta por su asesoramiento temporal para direccionar mejor la realización de este trabajo.

Al Dr. Noe Benjamin Pampa Quispe por su asesoramiento temporal y apoyo incondicional.

A la escuela profesional de ingeniería Ambiental por los laboratorio brindados para realizar los análisis respectivos.

A los docentes: Dr. Augusto Pumacahua Ramos, Ing. Cesar Augusto Condori Mamani, Ing. Enrique Mamani Cuela y la Ing. Nancy Curasi por su orientación y acertadas recomendaciones.

A todos aquellos que de alguna u otra manera influyeron y ayudaron a que culminar y alcanzar los objetivos trazados.

INDICE GENERAL

CAPITULO I	1
INTRODUCCIÓN	1
1.1 OBJETIVOS	3
1.1.1 Objetivo General	3
1.1.2 Objetivos Específicos	3
CAPITULO II.....	4
MARCO TEÓRICO	4
2.1 Antecedentes de la Investigación.....	4
2.1.1 Bebidas lácteas fermentadas	4
2.1. Marco Conceptual.....	6
2.1.2 Tarwi (<i>Lupinus mutabilis</i> Sweet).....	6
2.1.3 Taxonomía	8
2.1.4 Valor Nutricional	8
2.1.5 Extracto acuoso de tarwi	10
2.1.6 Elaboración del extracto acuoso.....	10
2.2 Probióticos	11
2.3 Levadura <i>Saccharomyces Boulardii</i>	12
2.3.1 Composición química.....	14
2.3.2 Crecimiento microbiano	15
2.3.3 Curva de crecimiento.....	15
2.4 Factores que influyen en el crecimiento microbiano	16
2.4.1 Temperatura	16
2.4.2 Oxigeno	16
2.4.3 pH.....	17
2.4.4 Nutrición.....	17

2.4.5	Forma y farmacocinética.....	18
2.4.6	Modelos predictivos del crecimiento microbiano.....	19
2.4.6.1	Modelo de Gompertz	20
2.4.7	Cinética microbiano.....	21
2.5	Propiedades Reológicas de las bebidas.....	22
2.5.1	Viscosidad.....	22
2.5.1.1	Principio Teórico de viscosidad.....	22
2.5.2	Viscosímetro de Ostwald	24
2.6	Evaluación Sensorial.....	25
2.6.1	Escala de Intervalos o Lineal.....	26
2.6.2	Prueba hedónica	26
CAPITULO III		26
MATERIALES Y MÉTODOS.....		27
3.1	Lugar de ejecución.....	27
3.2	Materia prima.....	27
3.3	Materiales y equipos	27
3.3.1	Materiales.....	27
3.3.2	Equipos.....	28
3.3.3	Reactivos.....	28
3.4	Metodología Experimental	29
3.4.1	Proceso para la Elaboración de una bebida probiótica mediante la obtención del extracto acuoso de tarwi.....	29
3.4.2	Descripción del proceso	30
3.4.3	Evaluación del Crecimiento Cinético de <i>Saccharomyces Boulardii</i> en fase logarítmica en las bebidas porbióticas de tarwi.	31
3.4.3.1	Preparación del Inoculo	32

3.4.3.2 Parámetros evaluados durante el proceso fermentativo cinética fermentativo	33
3.4.3.3 Evaluación estadística del Crecimiento microbiano.	34
3.4.4 Metodología en la Evaluación Sensorial.....	34
3.4.4.1 Prueba Discriminativa.....	34
Nota: Prueba Hedónica	35
3.4.5 Caracterización fisicoquímica y composición proximal. al producto final	35
CAPITULO IV	36
RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	36
4.1 Obtención del extracto acuoso de tarwi	36
4.2 Evaluación del crecimiento cinético de <i>Saccharomyces Boulardii</i> en fase logarítmica en el extracto acuoso de Tarwi.....	37
4.2.1 Monitoreo del conteo de levaduras (<i>Saccharomyces boulardii</i>) durante el proceso fermentativo de las bebidas	37
4.3 Parámetros cinéticos de crecimiento microbiana.....	40
4.3.1 Monitoreo de los °Brix durante el proceso fermentativo de las bebidas	43
4.3.2 Monitoramiento del pH durante el proceso fermentativo de las bebidas	45
4.3.3 Monitoramiento de la acidez titulable durante el proceso fermentativo de las bebidas.....	47
4.3.4 Monitoreo de la densidad durante el proceso fermentativo de las bebidas	49
4.3.5 Monitoreo de la viscosidad durante el proceso fermentativo de las bebidas	51
4.4 Medida del nivel de aceptación mediante evaluación sensorial.	53
4.5 Caracterización fisicoquímica y composición proximal. al producto final.	54
CAPITULO V.....	57
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	57
5.1 Conclusiones.....	57
5.2 Recomendaciones	59

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Productos probióticos brasileñas disponibles en el mercado.....	5
Tabla 2. Clasificación taxonómica del Tarwi.	8
Tabla 3. Composición centesimal del tarwi y soya (g / 100g).....	8
Tabla 4. Composición de ácidos grasos del tarwi (g/100g).....	9
Tabla 5. Contenido de aminoácidos esenciales en la semilla cruda de <i>Lupinus .mutabilis</i> sweet	9
Tabla 6. Microorganismos con propiedades probióticos	12
Tabla 7. Características generales de las levaduras	14
Tabla 8. Composición química de las levaduras.....	14
Tabla 9. Productos probióticos comerciales a partir de <i>Saccharomyces boulardii</i>	18
Tabla 10. Variables Independientes	31
Tabla 11. Tratamientos por el método de factorial	32
Tabla 12. Propiedades Fisicoquímicas.....	33
Tabla 13 Rango de puntos para la evaluación sensorial.	35
Tabla 14 Determinación de las Características fisicoquímicas proximal de la bebida probiótica.	35
Tabla 15 Caracterización física del extracto acuoso de tarwi.....	36
Tabla 16. Análisis de varianza respecto al crecimiento microbiano.....	37
Tabla 17. El crecimiento de la <i>Saccharomyces boulardii</i> en cada 3 horas por 24 horas.	39
Tabla 18. Parámetros cinéticos de <i>Saccharomyces boulardii</i> en las diferentes muestras bebida probioticas de tarwi	41
Tabla19. Análisis de varianza variable °Brix.	43
Tabla 20. Variación del ° Brix durante la fermentación de la bebida de tarwi.....	44
Tabla 21. Análisis de Varianza variable pH	45
Tabla 22. Datos obtenidos del pH seguidas de la desviación estándar	45
Tabla 23 Análisis de Varianza Variable Acidez	47
Tabla 24. Variación de la acidez durante la fermentación de bebida probiótica de tarwi.	47
Tabla 25. Análisis de Varianza Variable densidad	49

Tabla 26. Variación de la densidad durante la fermentación de las bebidas probióticas de tarwi.	49
Tabla 27. Análisis de varianza Variable Viscosidad	51
Tabla 28. Variación de la viscosidad durante el proceso fermentativo a 37°C	51
Tabla 29. Resultados obtenidas de la ficha de evaluación sensorial de bebida probiótica de tarwi en los atributos	53
Tabla 30 Análisis proximal de la bebida probiótica de tarwi (<i>L.mutabilis</i>) empleando <i>Saccharomyces Boulardii</i>	55

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.Planta del Tarwi (<i>Lupinus Mutabilis Sweet</i>).....	7
Figura 3. Levadura <i>Saccharomyces Boulardii</i>	13
Figura 4.Curva típica de crecimiento de una levadura	16
Figura 5. Ejemplo de Flujo laminar	22
Figura 6.Viscosímetro de Ostwald.....	25
Figura 7.Diluciones para evaluar el crecimiento de <i>saccharomyces Boulardii</i> a 37°C/24 horas.....	33
Figura 8. Curva de crecimiento de <i>saccharomyces boulardii</i> en las diferentes formulaciones de bebida probiótica de tarwi.	42
Figura 9.Comportamiento de los° Brix	44
Figura 10.Variación del pH durante el proceso fermentativo de <i>Saccharomyces boulardii</i> en la bebida probiótica de tarwi.	46
Figura 11.Comportamiento de la acidificación durante la fermentación de la bebida de tarwi con diferente contenido de sólidos e inóculo.....	48
Figura 12.Densidades óptimas de <i>Saccharomyces boulardii</i> en bebidas probiótica de tarwi encubadas a 37°C por 24 horas.....	50
Figura 13.Comportamiento reologico durante la fermentación de bebidas probiótica de tarwi.	52
Figura 14.Evaluación Sensorial	54

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1.Desamargado o deslupinizado de chocho	66
Anexo 2. Obtención del extracto acuoso de chocho o tarwi.....	66
Anexo 3 Proceso de fermentación de bebida de soya.....	67
Anexo 4.Determinación de pH AOAC 981.12 / 90.....	67
Anexo 5. Determinación de acidez AOAC 947.05 / 90.....	68
Anexo 6. Determinación de solidos solubles AOAC 925.105 / 90.	68
Anexo 7. Determinación de grasa AOAC, 985.15, 1990	69
Anexo 8.Determinacion de Cenizas 15th EditionA.O.A.C.1990	70
Anexo 9. Determinación de proteínas: Método Kjeldhal. 13th Edición A.O.A.C. 1984	70
Anexo 10. Determinar la humedad método de la estufa de aire 15th Edición AOAC 925.10, 1990	72
Anexo 11.Determinación del número de microorganismos por recuento en cámara de conteo neubauer improved.....	73
Anexo 12.Método para la determinación del contenido alcohólico de etanol por el método de destilación simple.....	75
Anexo 13 Determinación de la Viscosidad para fluidos newtonianos	75
Anexo 14.Densidad relativa.....	76
Anexo 15.Ficha de Evaluación Sensorial	77
Anexo 16.Fotos.....	78
Anexo 17 Anovas del análisis sensorial	80

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue “Determinar los parámetros para la elaboración de bebida probiótica de tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) empleando *Saccharomyces boulardii*. La bebida de tarwi, elaborado a partir de la obtención del extracto acuoso de tarwi obtenida en relación de 1:2 (tarwi-agua), seguidamente se preparó los sustratos para evaluar el crecimiento cinético de *saccharomyces boulardii* de acuerdo al diseño factorial 2^2 , cuyas variables en estudio fueron el % de sacarosa (6-12 °Brix) y el % de inóculo (2-4ml), a temperatura de 37°C y fermentados por un tiempo de 24 horas. Analizándose los siguientes parámetros “recuento de levaduras (ufc/ml), °Brix, pH, acidez, densidad, viscosidad”. Respectivamente se procedió a elaborar la bebida de tarwi el cual se evaluaron sensorialmente de acuerdo a la escala hedónica de 9 puntos donde la mejor combinación es A2 (6%CS.4%CI) finalmente a la muestra se analizó sus propiedades físico química cuyos datos obtenidos fue: pH 5.40, materia seca 8.11%, humedad 91.99%, proteína 44.05%, grasas 15.32%, cenizas 3.50%, acidez 0.26%, alcohólico 0.98%, sólidos totales 8.11%, densidad 1.025g/ml. la bebida a base de tarwi (*Lupinus mutabilis*) presenta como potencial de una nuevo bebida probiótica para un grupo de productos no lácteos, y además, los parámetros para la elaboración de bebida probiótica tarwi será en relación de 1:2 (tarwi-agua) con un 6% de sacarosa y 4% de inóculo a 37°C.

PALABRAS CLAVE: Fermentación/probiótico/parámetro

ABSTRACT

The aim of this work was to "determine the parameters for the development of probiotic drink lupine (*Lupinus mutabilis* Sweet) using *S. boulardii*. Drink tarwi, made from obtaining aqueous extract of tarwi obtained in ratio of 1: 2 (tarwi-water), then the substrates was prepared to evaluate the kinetic growth of *S. boulardii* according to factorial design 2², whose variables studied were the% sucrose (12.6 ° Brix) and% inoculum (2- 4ml), at 37 ° C and fermented for a time of 24 hours. Monitoring the following parameters "yeast counts (cfu / ml) Brix, pH, acidity, density, viscosity". Respectively we proceeded to prepare the drink tarwi which sensuously evaluated according to the hedonic scale of 9 points where the best combination is A2 (6% CS.4% CI) finally to show their physicochemical properties whose data was analyzed was obtained: pH 5.40, 8.11% dry matter, moisture 91.99%, 44.05% protein, 15.32% fat, 3.50% ash, 0.26% acidity, alcoholic 0.98%, 8.11% total solids, density 1.025g / ml. drink based tarwi (*Lupinus mutabilis*) presented as potential of a new probiotic drink for a group of non-dairy products, and also the parameters for the development of probiotic drink tarwi be in ratio of 1: 2 (tarwi-water) with 6% sucrose and 4% inoculum at 37 ° C.

KEYWORDS: Fermented / probiotic / parameter

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

Los consumidores modernos están cada vez más interesados en su salud personal, y esperan que la cola de alimentos que comen sean sanos o incluso capaz de prevenir la enfermedad (Mattila y otros, 2002) así como también en la actualidad grandes masas de personas viven ajetreadas con el trabajo no cediendo tiempo para preparar sus propios alimentos de modo que terminan comiendo fuera de casa ya sea en supermercados, restaurantes, snack u otros. (Sandoval y Camarena, 2011).

Sin embargo muchas veces el consumidor se ve afectado con problemas de indigestión por el consumos de algunos alimentos en mal estado o siendo así que recurren a la utilización de antibiotibioticos como tratamiento a las diversas enfermedades gastrointestinales en las que usualmente las personas terminan por auto medicarse destruyendo así la flora microbiana del organismo privándose de acción benéfica de estos ya que esta consta de bacterias necesarias en el proceso de asimilación de los nutrientes aportados por los alimentos así como también de la protección frente a otros microorganismos patógenos (López y Estibaliz, 2008).

De modo que en los últimos años se han tomado acciones para promover el consumo de bebidas con ingredientes funcionales (bebidas probióticas) de modo que las deficiencias producidas por los alimentos mal sanos puedan ser suplidas y así grupos como niños y adolescentes puedan tener el suplemento necesario en su dieta. (Thamer y Penna, 2006).

La levadura *Saccharomyces boulardii* suministradas en dosis adecuadas 107 posee propiedades benéficas a la salud y fisiología, sobrevive a la acidez del estómago (Buts,

2005). Esta levadura modula el sistema inmune, degrada las toxinas de la cólera, estimula la actividad enzimática (Martins y otros, 2009). Así como también presenta ser eficiente en la prevención y tratamientos de diarreas. (Federal y Gerais, 2011) clínicamente estudios experimentales *Saccharomces boulardii* es antiinflamatorio, antimicrobial, metabólicas y actividades antioxidantes. (Ertor, 2003; Billoo y otros, 2006; Zajewska, 2012)

Es así que el desarrollo de bebidas probióticas con características funcionales está cobrando fuerza tanto por su funcionalidad como por su poder nutritivo tal es el caso de bebidas funcionales como las bebidas de soya fermentadas con bacterias lácticas de modo que el consumidor se vea beneficiado por el consumo de estas.

La presente investigación tiene la finalidad de determinar los parámetros para la elaboración de una bebida probiótica de tarwi empleando *Saccharomyces boulardii*, ya que en la actualidad la utilización del tarwi en la elaboración de diversos productos se ha convertido en una alternativa saludable para el consumo humano aportando aminoácidos esenciales, por otro lado el empleo de microorganismos como *Saccharomyces boulardii* en el proceso de fermentación para la obtención de productos probióticos presenta una manera saludable para el cuidado de la salud. Así que este trabajo muestra una opción de calidad en las bebidas fermentadas para el cuidado de la salud.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo General

Determinar los parámetros para la elaboración de bebida probiótica de tarwi (*Lupinus mutabilis sweet*) empleando *Saccharomyces boulardii*”

1.1.2 Objetivos Específicos

- Obtener el extracto acuoso de tarwi.
- Evaluar el crecimiento cinético de *Saccharomyces Boulardii* en fase logarítmica en la bebida probiotica de tarwi.
- Medir el nivel de aceptación mediante evaluación sensorial.
- Realizar al producto final la caracterización fisicoquímica y composición proximal.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de la Investigación

2.1.1 Bebidas lácteas fermentadas

(Yerlikaya, 2014) realizó una investigación bibliográfica acerca de la aplicación de cultivos en productos lácteos probióticos y bebidas lácteas probióticas en las más populares, donde menciona que los productos lácteos que contienen bacterias probióticas son los que se producen con diferentes métodos de fermentación, la fermentación del ácido láctico especialmente mediante el uso de cultivos iniciadores y los que tienen diferentes texturas y aromas. Los Productos lácteos fermentados son populares debido a sus diferencias en el sabor y sus efectos fisiológicos favorables. Recientemente, debido a la mayor demanda de nutrientes naturales y productos probióticos, bebidas lácteas fermentadas han alcanzado una posición diferente y se considera que tienen un impacto importante en la salud humana y la nutrición.

En el mundo académico se cree que los microorganismos probióticos pueden mejorar la salud, por ello la población debe ser más consciente. Para abastecer la creciente demanda, la industria alimentaria ha estado desarrollando nuevos productos probióticos. Algunas cepas específicas de bacterias de ácido láctico tales como *L. acidophilus*, *L. casei*, *B. longum*, *L. fermentum*, *L. rhamnosus*, *L. reuteri*, *L. crispatus*, *L. plantarum*, *B. animalis* y *B. lactis* están en el mercado y ofrecen un buen beneficio para varias compañías. En este contexto, otras bebidas probióticas y yogures se han desarrollado, tanto en los sectores académicos e industriales, para ofrecer nuevas fuentes de productos, como se ilustra en la Tabla 1. Sin embargo este mercado todavía tiene un enorme

potencial de crecimiento, ya que la mayoría de los productos disponibles son yogures o lácteos fermentados con *B. animalis* y *L. acidophilus* (Granato y otros, 2010).

Tabla 1.

Productos probióticos brasileñas disponibles en el mercado.

Product Category	Product	Manufacturer	Probiotic Strains
Fermented milk	Yakult	Yakult	<i>L. casei</i> Shirota
	Sofyl	Yakult	<i>L. casei</i> Shirota
	Chamyto	Nestlé	<i>L. johnsonii</i> <i>L. helveticus</i>
	Activia	Danone	<i>B. animalis</i> DN 173010
	Actimel	Danone	<i>L. casei</i> defensis
	-	Paulista	<i>L. casei</i>
	Danito	Danone	<i>L. casei</i>
	-	Parmalat	<i>L. acidophilus</i> <i>L. casei</i> <i>B. animalis</i> subsp. Lact
	Vigor – Club	Vigor	<i>L. acidophilus</i> <i>L. casei</i>
	Batavito	Batavo	<i>L. casei</i>
	Bob Sponja	Batavo	<i>L. casei</i>
Yogurt – Like beverages	Activia (stirred)	Danone	<i>B. animalis</i> DN 173010
	Activia (drinkable)	Danone	<i>B. animalis</i> DN 173010
	Lective (stirred)	Vigor	<i>B. animalis</i> subsp. Lact
	Lective (drinkable)	Vigor	<i>B. animalis</i> subsp. Lact
	Biofibras (stirred)	Batavo	<i>B. animalis</i> subsp. Lact <i>L. acidophilus</i>
	Biofibras (drinkable)	Batavo	<i>B. animalis</i> subsp. Lact <i>L. acidophilus</i>
	Nesvita (stirred)	Nestlé	<i>B. animalis</i> subsp. Lact
	Nesvita (drinkable)	Nestlé	<i>B. animalis</i> subsp. Lact

Fuente: (Granato y otros, 2010)

(Coutinho, 2009) en su investigación Elaboro una bebida probiótica a partir de jugo de naranja fermentado con *lactobacillus casei*” en donde mediante el diseño experimental estudiaron la influencia del pH y temperatura de fermentación. Por 20 horas. *L. casei* presento una máxima viabilidad de 6.0 a 30°C a lo largo del proceso fermentativo también se evaluó el crecimiento, viabilidad, pH, color y azúcares reductores, el crecimiento de *L.casei* presento un crecimiento de 9 Log UFC/mL.

(Quicazán, 2001). Elaboro una bebida de soya fermentada con un cultivo láctico termófilo constituido por *L delbrueckii ss. bulgaricus*, *L delbrueckii ss. laciis* y *S.salivarius ss. Thermophilus*. En donde se evaluó la acidificación, pH y la acidez titulable

mediante un seguimiento durante el tiempo de fermentación. Comprobándose que a pesar de la ausencia de la lactosa como sustrato la acidificación en este proceso es debida a la producción de ácido láctico, y que el contenido de sólidos de la bebida utilizada influye en la producción del mismo, así como en la viscosidad alcanzada en el producto.

Estudios realizados por Castañeda y otros, (2008) desarrollaron un yogurt probiótico denominado “probiótico elaborado en base a las semillas de *Lupinus mutabilis* Sweet (chocho o tarwi)” en donde realizó 2 mezclas de diferentes concentraciones (70 % leche en polvo + 30 % de leche de tarwi) y (80 % de leche en polvo + 20 % leche de tarwi). Teniendo como resultados que en las 2 mezclas diferentes. El contenido de sólidos totales presente en la mezcla se encontró entre 12 a 14 %. El contenido en proteínas fue de 3,86 y 3,93%, grasa 2,88 y 3%, carbohidratos 14,04 y 14,13% con un aporte energético de 97,57 y 99,33 kcal respectivamente. Concluyéndose que el yogurt mediante sustitución parcial de tarwi en las proporciones indicadas ofrecen una buena posibilidad de utilización de esta leguminosa a través de la elaboración de productos que son similares en el mercado.

2.1. Marco Conceptual

2.1.2 Tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet)

El tarwi o chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet), es una leguminosa que tiene un alto contenido de alcaloides que le confieren un sabor amargo y afecta su biodisponibilidad de nutrientes si se le consume directamente sin extraer los alcaloides. (Ayala, 2004).

El tarwi es una leguminosa originaria de los Andes de Bolivia, Ecuador y Perú. Ha sido cultivada en el área andina desde épocas preincaicas. A pesar de su gran valor nutritivo y resistencia a factores climáticos adversos en las zonas donde se siembra, el

cultivo y consumo de esta especie está disminuyendo progresivamente debido a la falta de difusión de sus formas de uso y a la promoción de su consumo. Otro factor que afecta su consumo es el fuerte sabor amargo que caracteriza a sus granos, debido a su alto contenido de alcaloides. Por esta razón, se requiere de un proceso de lavado previo a su consumo para eliminar dichas sustancias; esto constituye una desventaja frente a otras leguminosas introducidas (Jacobsen y Mujica, 2006).



Figura 1. Planta del Tarwi (Lupinus Mutabilis Sweet)

Fuente: Kress, H. (2009). Base de datos de flores, árboles y hojas [fotografía]. Tomado de: <http://www.henriettesherbal.com/>

2.1.3 Taxonomía

Jacobsen y Mujica, (2006) indica que este cultivo se clasifica de la siguiente manera como se le puede apreciar en la Tabla 2.

Tabla 2.

Clasificación taxonómica del Tarwi.

Reino	Vegetal
División	Fanerógama
Clase	Dicotiledónea
Orden	Fabales
Familia	Fabaceae
Genero	<i>Lupinus</i>
Especie	<i>Lupinus Mutablis</i>
Nombre común	Tarwi

Fuente: Ruiz Sotelo, 2001

2.1.4 Valor Nutricional

El grano tarwi es un rico en proteínas y grasa, como se observa en la tabla 3 donde se presenta la evaluación biológica de la calidad de la proteína, razón por la cual debería formar parte de nuestra dieta. Su contenido proteico es incluso superior al de la soya y su contenido en grasa es similar. Las semillas excepcionalmente nutritivas, Las proteínas y aceites constituyen más de la mitad de su peso, estudios realizados en más de 300 diferentes genotipos muestran que la proteína varía de 41- 51 % y el aceite de 14-24% (Castañeda y otros 2008).

Tabla 3.

Composición centesimal del tarwi y soya (g / 100g)

Componente	Tarwi	Soya
Proteína	44,3	33,4
Grasa	16,5	16,4
Carbohidratos	28,2	35,5
Fibra	7,1	5,7
Ceniza	3,3	5,5
Humedad	7,7	9,2

Fuente (Jacobsen & Mujica, 2006)

El contenido de aminoácidos y ácidos grasos esenciales presente en la semilla de tarwi se muestra en las Tablas 4 y 5 respectivamente.

Tabla 4.

Composición de ácidos grasos del tarwi (g/100g)

Ácidos	%
Oleico (Omega 9)	40,4
Linoleico (Omega 6)	37,1
Linolénico (Omega 3)	2,9
Palmítico	13,4
Palmitoleico	0,2
Esteárico	5,7
Mirístico	0,6
Araquídico	0,2
Behénico	0,2
Erúsico	0,0
Cociente Polisat/Satur	2,0

Fuente:(Jacobsen & Mujica, 2006)

Tabla 5.

Contenido de aminoácidos esenciales en la semilla cruda de Lupinus .mutabilis sweet

Aminoácidos	Aminoácidos g)16g N
Isoleucina	4.8.
Leucina	7.0
Licina	5.9
Metionina+ cisteína	1,6
Fenil-Alamina	4.3
Tirosina	3.6
Treonina	3.8
Triptofano	0.7
Valina	4.2

Fuente:(Schoeneberg y otros 1981)

Las semillas de tarwi poseen en mayor cantidad aminoácidos como leucina que interactúa con otros aminoácidos y es útil en la cicatrización del tejido muscular, piel y huesos, lisina que garantiza la absorción adecuada de calcio y ayuda en la formación de colágeno; fenilalanina que eleva el estado de ánimo, ayuda a la memoria y se usa para

tratar la artritis; valina necesaria para el metabolismo muscular y que promueve el vigor mental (Ha y Zemel, 2003). Por otro lado, los ácidos grasos como el oleico que reduce los riesgos de sufrir enfermedades cardiovasculares y tiene efecto antitumoral (Carrillo y otros, 2012) y el linoleico que aumenta las defensas y disminuye la presión arterial. Debido a su alto valor nutritivo en aminoácidos y ácidos grasos importantes para la dieta diaria.

2.1.5 Extracto acuoso de tarwi

Extracto acuoso de tarwi se denomina al que se ha eliminado la testa (descascarado), se licua y cuele, dando un líquido de color crema, que se consume caliente agregando chocolate (pasta de cacao diluido). En dulces es utilizado como sustituto de la leche fresca siendo agradable y saludable. El extracto acuoso de tarwi es recomendable para personas alérgicas a la leche de vaca, puesto que el extracto acuoso de tarwi contiene un alto porcentaje de grasas vegetales insaturadas, incluso forma su propia nata. (Jacobsen y Mujica, 2006)

2.1.6 Elaboración del extracto acuoso

Para la obtención de este producto el grano debe de estar completamente desamargado, ya que los residuos de alcaloides afectan a la estabilidad del producto.

El grano se licua con agua manteniendo una homogenización, se tamiza obteniendo dos residuos, el líquido es la base para la elaboración del extracto acuoso y la fibra residual rica en proteína con el 46 %, utilizado en la preparación de recetas como, sopas, postres y bebidas. (Villacres y Egas ,2008).

El extracto acuoso obtenida se homogeniza a 60 % durante un minuto, luego se pasteuriza a 75 °C, durante 15 minutos, se envasa y se almacena en refrigeración, el

producto final presenta buenas características organolépticas y puede ser utilizado como materia prima como la elaboración de yogurt o queso (Loja y Orellana, 2012).

El rendimiento promedio de la obtención del producto es del 220 % es decir cada 1 kilogramo de chocho se obtiene 2.2 litros del extracto acuoso de tarwi. (Villacres y Egas, 2008).

2.2 Probióticos

El probiótico se define como “un microorganismo vivo que se introduce en la dieta y que tras ser ingerido en cantidad suficiente ejerce un efecto positivo en la salud, más allá de los efectos nutricionales tradicionales” (Marquina y Santos, 2001).

Por otro lado los microorganismos probióticos por lo general son beneficiarios al ser humano, sin embargo de manera algunas bacterias probióticas poseen poca resistencia durante su paso al tracto gastrointestinal, resultando en una baja viabilidad al momento de llegar al colon. (Zamora y otros 2013)

Generalmente los probióticos son usados en medicina humana en la prevención y tratamiento de enfermedades en la regulación micro biota intestinal, disturbios del metabolismo gastrointestinal.(Amores Y otros, 2004) menciona que en general (aunque no de forma exclusiva) son bacterias “ácido lácticas”, principalmente pertenecientes a los géneros *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. delbrueckii subsp. bulbaricus*, *L. plantarum*, *L. salivarius*, *L. rhamnosus*, *L. johnsonii* y *L. reuteri*) y *Bifidobacterium* (*B. bifidum*, *B. infantis*, *B. breve*, *B. longum* y *B. lactis*). Otros microorganismos probióticos son *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus faecalis*, *Saccharomyces boulardii* y *Escherichia coli Nissle* 1917. Los principales probióticos utilizados en clínica se enumeran en la Tabla 6.

Tabla 6.

Microorganismos con propiedades probióticos

Lactobacillus	Bifidobacterium	Otras bacterias ácido – lácticas	Bacterias no ácido – lácticas
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. adolescentes</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Bacillus cereus</i>
<i>L. amylovorus</i>	<i>B. animalis</i>	<i>Faecalis</i>	Var. <i>Toyol</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>L. crispatus</i>	<i>B. breve</i>	<i>Faecium</i>	<i>Cepa nissle</i>
<i>L. delbrueekii</i>	<i>B. infantis</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Propionibacterium</i>
Subsp	<i>B. lactis</i>	<i>Leuconstoc</i>	<i>Freudenreichii</i>
<i>Bulgaricus</i>	<i>B. longum</i>	<i>Mesenteroides</i>	<i>Saccharomyces</i>
<i>L. gallinarum</i>		<i>Pediococcus</i>	<i>Cerevisiae</i>
<i>L. gasseri</i>		<i>Acidilactiel</i>	<i>Saccharomyces</i>
<i>L. johnssonil</i>		<i>Sporolactobacillus</i>	<i>boulardii</i>
<i>L. paracasei</i>		<i>Inulinus</i>	
<i>L. plantarum</i>		<i>Streptococcus</i>	

Fuente: (Citado por Carrillo H, 2014)

2.3 Levadura *Saccharomyces Boulardii*

Según (Buts, 2005) indica que *Saccharomyces boulardii* es una levadura natural no modificada genéticamente que es aislada de la corteza del árbol del itchi en Indochina, (McFaland,2009) y a principios de los años 50 se empleó en Francia para tratar un caso de desorden diarreico. Esta levadura muestra un crecimiento óptimo a una temperatura inusualmente alta de aproximadamente 37°C y por ello la levadura *Saccharomyces boulardii* se considera un probiótico; ya que cuando recorre el tracto gastrointestinal genera efectos fármaco dinámicos semejantes a los efectos fisiológicos de la flora intestinal normal.

Es ampliamente prescrita en diversos países en forma liofilizada, como agente preventivo es terapéutico para diarrea y otras desordenes gastrointestinales (Czerucka, 2007)

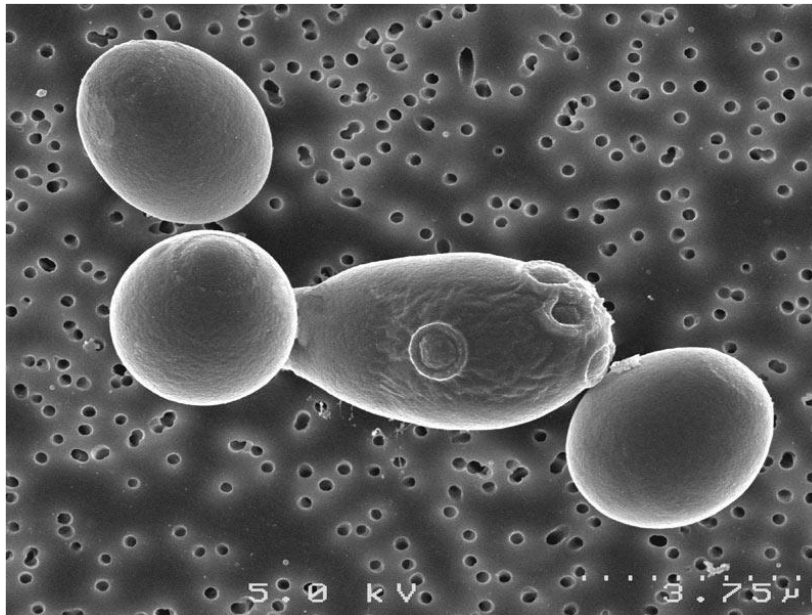


Figura 2. Levadura Saccharomyces Boulardii

Fuente: The Kaiser citado por Sousa Pietra 2011) center por probiotic research

Las levaduras son organismos eucarióticos unicelulares, por lo tanto sus estructuras se encuentran formadas por pared celular, núcleo y organelos como ribosomas y mitocondrias. La formación de una capsula de polisacáridos, la ausencia o presencia de vacuolas y el desarrollo de las mitocondrias dependen de las condiciones fisicoquímicas y de la edad de cultivo (Tuite y Oliver, 2007)

Las levaduras presentan, en general mayor resistencia a cambios ambientales bruscos (gradientes de p H, cambios osmóticos, etc.) que las bacterias lácticas, así como menores requerimientos nutricionales que redundan en la reducción de costes en los procesos de producción (Pardo y otros 2009). Estas levaduras también son esenciales en la producción de algunos alimentos y bebidas, tales como pan, cerveza, vino y sidra (Rendueles y Díaz, 2014).

Las levaduras no son huéspedes habituales de la microbiota microbiana digestiva en los animales monogástricos, por lo cual circula a lo largo del tracto digestivo en forma viva y activa sin adherirse a las paredes del mismo

Las características generales de las levaduras se muestran en la Tabla 7

Tabla 7.

Características generales de las levaduras

Características	Levaduras
Dimensiones (micra)	4 – 8
Tiempo de duplicación (horas)	1-3
p H (rango optimo)	4,5 -5,5
Nitrógeno (%)	7,5 – 8,5
Proteína (%)	35- 45
Ácidos nucleótidos (%)	6-12
Carbohidratos (%)	30-45

Fuente: Ospina y Palacios citados por Fajardo y Sarmiento, 2007.

2.3.1 Composición química

Las levaduras contienen un 75% de agua y un 25 % de materia seca aproximadamente. La composición de la materia seca de la levadura se presenta en la Tabla 8

Tabla 8.

Composición química de las levaduras

Características	Levaduras
Ceniza	7
Carbohidratos	43
Proteína	48
Grasa	2

Las sustancias minerales de las levaduras presentan por lo general un 5-9 % del peso seco. Los principales son fosfórico alrededor del 50% y potasio de 39%

Las sustancias nitrogenados de la levadura presentan unas dos terceras partes de su peso seco (30-75%) contienen entre 5 y 12 % de nitrógeno.

2.3.2 Crecimiento microbiano

Se entiende por el aumento del número de microorganismos a lo largo del tiempo. Por tanto, no nos referimos al crecimiento de un único microorganismo que denominaremos ciclo celular, sino al demográfico de una población. (Andino y Castillo, 2010)

2.3.3 Curva de crecimiento.

Se ha visto el ciclo de crecimiento parcialmente en la parte de crecimiento exponencial. Un cultivo bacteriano simple y homogéneo tiene un ciclo de crecimiento como el que se representa a continuación. Puede dividirse en varias fases:

a) Fase de adaptación.

Esta fase es generalmente considerada como el periodo que precede al estado de crecimiento exponencial, que en la mayoría de los casos presenta una duración corta y a la vez la fase de adaptación se considera en 2 partes. Buitrago y Escobar, (2009).

b) Fase de crecimiento exponencial.

Las células se incrementan exponencialmente, debido a que una de las células se encuentra en un estado interno de división celular. Buitrago y Escobar, (2009).

c) Fase estacionaria.

En este periodo el porcentaje de crecimiento comienza a decrecer y eventualmente el número de células comienza a ser constante. El número de células que mueren es comparativamente igual, al número de células que se forman, habiendo un estado de equilibrio (Buitrago y Escobar, 2009).

d) Fase de decaimiento.

Generalmente, el número de células mueren exceden el número de las células que se produce y el cultivo experimenta una fase de declive (Buitrago y Escobar 2009).

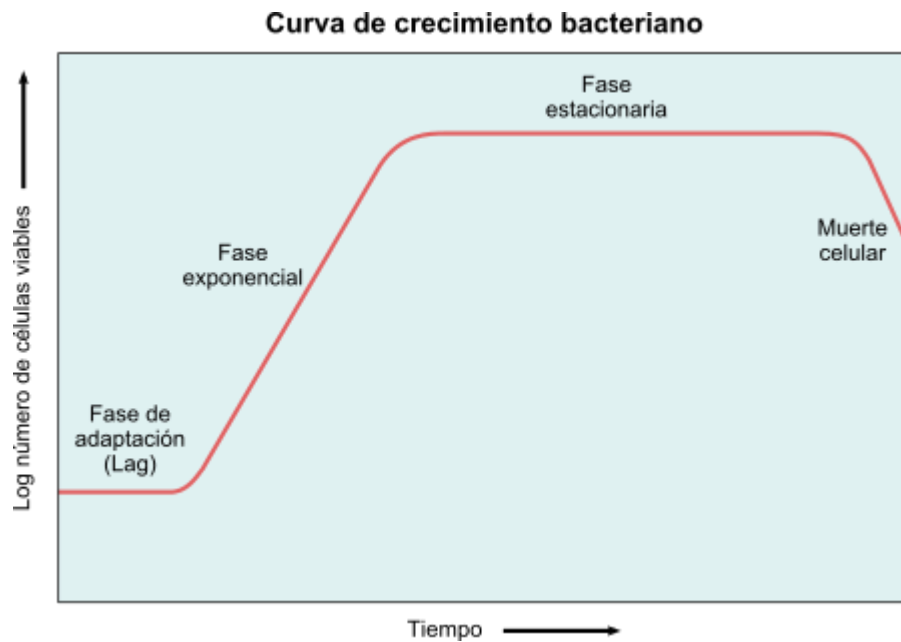


Figura 3. Curva típica de crecimiento de una levadura
Fuente: Buitrago y Escobar 2009. Aplicación de levadura *Cándida spp* como una alternativa viable para la retardación en la producción del banano (*Musa acuminata*).

2.4 Factores que influyen en el crecimiento microbiano

2.4.1 Temperatura

La temperatura afecta el crecimiento de manera notable, principalmente porque los microorganismos de una especie dada solo pueden crecer en un rango restringido de temperaturas, esto afecta de manera importante el crecimiento microbiano (Quintero, 1981)

La temperatura de crecimiento de la mayoría de las levaduras está comprendida entre 5 y 37°C el valor óptimo se sitúa hasta los 28 °C. Sin embargo estas temperaturas no son rigurosamente las óptimas de crecimiento de las levaduras cuando se encuentra en su ambiente naturales.

2.4.2 Oxígeno

La presencia de oxígeno contribuye a la degradación de antocianinas. La pérdida de antocianinas ante la presencia de oxígeno depende del pH y se relaciona a la

concentración presente de la pseudo base. La retención de color es mejorada cuando el oxígeno es removido por el calentamiento, puede ser por vacío o por el flujo de nitrógeno (Yarlaqué y Del Carmen, 2014). Menciona que la presencia de oxígeno acelera la destrucción de pelargonina -3- glucósido en ambas soluciones de buffer de pH 2-4.

La ausencia o abundancia de oxígeno permite una selección tanto de microorganismos como productos de metabolismo. Cuando el cultivo se produce en presencia de oxígeno molecular, la fermentación se denomina aeróbica y cuando este carece de oxígeno anaeróbica. Si la fermentación es anaeróbica, la mayor parte del carbono se emplea como energía y solo el 2% se asimila como material celular.

2.4.3 pH

El pH es la medida de la concentración de iones de hidrógeno y tiene un marcado efecto en la velocidad de crecimiento y el rendimiento. También el pH es óptimo para algunas especies como la de las levaduras que comprende un rango de 4.0 a 6.0. Un cambio en el valor de pH de medio puede afectar su composición y la naturaleza de la superficie microbiana al disociarse ácidos y bases. Este último, puede afectar la floculación de las biomasas o su adhesión al vidrio. El pH tiene una gran influencia en los productos finales del metabolismo anaeróbico (Quintero y otros, 2001)

2.4.4 Nutrición

Las levaduras para su crecimiento necesitan fuentes de carbono orgánico y nitrógeno mineral u orgánico, algunas además necesitan de varias vitaminas (tiamina, biotina, inositol, ácido pantotónico etc.) y otros factores de crecimiento (Villamil y otros, 1999)

El carbono es el compuesto mayoritario de la célula de levaduras alrededor del 50% del peso seco; y una vez los compuestos carbonados son utilizados por levaduras como fuente de carbono y energía. (Espinoza, 2015)

Un medio de cultivo debe tener todos los elementos necesarios para el crecimiento microbiano, pero es conveniente señalar que las relaciones entre ciertos elementos son de particular importancia. Según investigaciones realizadas se ha encontrado en un cultivo para levaduras en maleza la relación carbono /nitrógeno es relevante en lo que se refiere a la eficiencia de conversión energética y respiración

Tabla 9.

Productos probióticos comerciales a partir de Saccharomyces boulardii

Productos	Acción Terapéutica	Presentación y administración	Dosis
Bio – Flora	Antidiarreico Reconstituyente de la flora	Sobre c/12 h	Liofilizado de 250 mg 5 x 10 ¹¹ cel. vivas
Floratil	Antidiarreico Tratamiento de disbacteriosis*	Sobres y cápsulas c/12 h	Liofilizado de 200 mg
Perenteryl	Antidiarreico	Sobres y cápsulas c/12 h	Liofilizado de 250 mg 5 x 10 ¹¹ cel. vivas

Fuente: Modificación de las proporciones constantes entre la flora intestinal (sobre crecimiento de patógenos en el estómago o intestino)

2.4.5 Forma y farmacocinética

Saccharomyces boulardii liofilizada se obtiene a través del secado por congelación en presencia de lactosa. Este método permite que la levadura se mantenga viva y estable. Un estudio de las propiedades farmacodinámicas de *Saccharomyces boulardii* demostró que, en la mayoría de casos, dichas propiedades están asociadas a su capacidad de reactivación. Al igual que todas las levaduras, *Saccharomyces boulardii* es genéticamente resistente a los antibióticos antimicrobianos; para casi todos los antibióticos estudiados, el MIC de *Saccharomyces boulardii* siempre es muy alto > 128 mg/l. (Buts, 2005)

2.4.6 Modelos predictivos del crecimiento microbiano

La aplicación de modelos matemáticos para describir el crecimiento de los microorganismos en alimentos ha tenido un notable desarrollo en los últimos años. Según Coll y otros (2001) principales factores que han contribuido a incrementar el interés por los modelos predictivos en microbiología de alimentos han sido dos. El primero de ellos ha sido el marcado aumento de las intoxicaciones provocadas por alimentos durante los años 80, lo que llevó a un mayor conocimiento, por parte de la opinión pública, de los requerimientos para una alimentación sana y segura. El segundo ha sido la comprensión de que los métodos microbiológicos tradicionales y muchos métodos "rápidos", que se utilizaban para determinar la calidad y la seguridad de los alimentos, estaban limitados por las necesidades de tiempo para obtener resultados y tenían muy poco valor predictivo. (Garza, 1996).

Los modelos microbianos constituyen valiosas herramientas, en la industria alimentaria, para predecir el crecimiento o supervivencia de los microorganismos. Los modelos pueden, de esta forma, aportar información muy útil para tomar decisiones acerca de la higiene y la vida útil de un producto, pudiéndose estimar los riesgos potenciales debidos al crecimiento de patógenos en un alimento tras un período de almacenamiento en determinadas condiciones, o establecer una fecha de caducidad para un producto mediante la estimación del tiempo necesario para alcanzar un nivel especificado de alteración del producto o de población microbiana. Además también son útiles en otro tipo de situaciones relacionadas con la predicción del control de calidad, el desarrollo de nuevos productos, planes de trabajo y análisis de datos en laboratorios y en educación (Garza, 1996).

Alteración del producto o de población microbiana. Además también son útiles en otro tipo de situaciones relacionadas con la predicción del control de calidad, el desarrollo de nuevos productos, planes de trabajo y análisis de datos en laboratorios y en educación (Garza, 1996).

2.4.6.1 Modelo de Gompertz

El modelo más ampliamente utilizado para describir el crecimiento microbiano es la función de Gompertz modificada (Cárdenas y otros 2001).

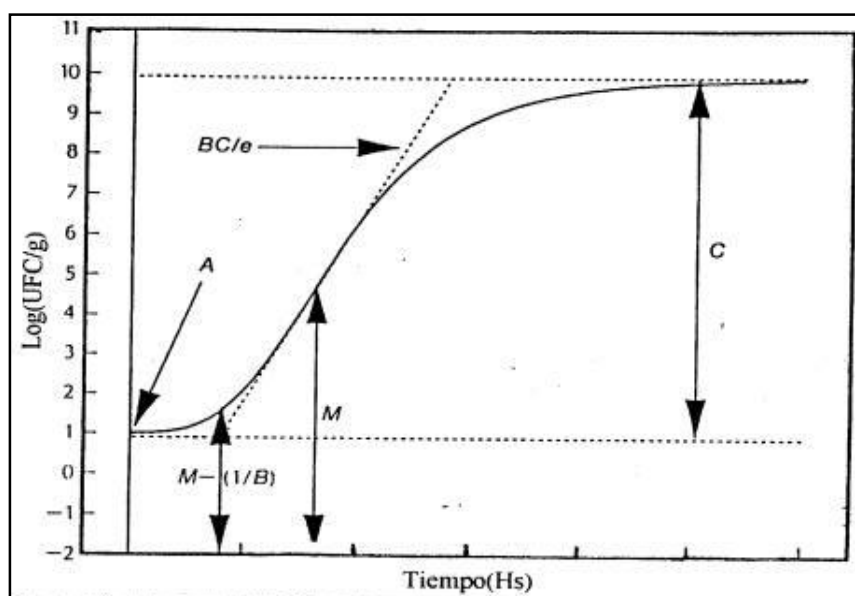


Figura 3. Parámetros del modelo de Gompertz
Fuente: (Coll y otros, 2001)

Se trata de una ecuación sigmoideal asimétrica de cuatro parámetros que viene dada por la expresión: (Garza, 1996).

$$\text{Log } N = A + C \exp(-\exp(-B(t-M)))$$

Siendo:

Log N = Logaritmo decimal del recuento de microorganismos a un tiempo [log (UFC/ml)].

A = Logaritmo decimal del recuento inicial de microorganismo [log (UFC/ml)].

C = Logaritmo decimal del incremento final de microorganismos [\log (UFC/ml)].

M = Es el tiempo requerido para alcanzar la máxima velocidad de crecimiento [hs].

B = Es la velocidad de crecimiento relativa al tiempo M [hs]⁻¹.

t = tiempo [hs].

$\exp = e = 2,7182$

De estos parámetros se deriva: la velocidad específica de crecimiento ($\mu=B*C/e$ [\log (UFC/ml)/hs]); la duración de la fase de latencia ($LPD=M-1/B$, [hs]) y la máxima densidad de población ($MPD=A+C$, [\log UFC/ml]).

Según Garza, este modelo ha sido muy utilizado últimamente por varios autores para describir la cinética de crecimiento en diversas especies bacterianas aisladas de alimentos: *Salmonella* y *Escherichia coli* (Gibson y Roberts, 1986 Buchanan y Bagi, 1994), *Aeromonas hydrophila* (Marchetti y otros, 1992), *Listeria monocytogenes* (Dalgaard y otros, 1994), *Yersinia enterocolitica* (Bhaduri y otros, 1994). Sin embargo la bibliografía existente sobre modelización de poblaciones de mohos y levaduras es mucho más escasa.

2.4.7 Cinética microbiano

La microbiología predictiva se basa en el desarrollo de modelos matemáticos que permiten predecir la velocidad de crecimiento de los microorganismos bajo determinadas condiciones ambientales (Coll y otros 2001). Algunos de los factores principales que afectan el crecimiento microbiano en los alimentos son la temperatura y el pH por lo cual deben tenerse en cuenta para lograr una determinada predicción. La aplicación de modelos matemáticos se realiza en dos etapas principales:

1) Modelado de la curva de crecimiento del microorganismo

2) Descripción de la variación de los distintos parámetros que afectan a dicha curva.

Estas curvas se ajustan y sus parámetros se derivan usando programas computacionales

El empleo de modelos matemáticos permite así, cuantificar y predecir el desarrollo microbiano con el objeto de asegurar la calidad de un alimento.

2.5 Propiedades Reológicas de las bebidas

2.5.1 Viscosidad

2.5.1.1 Principio Teórico de viscosidad

Una propiedad general de un fluido es que a la aplicación de una fuerza tangencial que produce un flujo en el mismo, se le opone una fuerza proporcional al gradiente en la velocidad de flujo. Este fenómeno se conoce como viscosidad. Consideremos dos placas paralelas de área A separadas por una distancia D . es conveniente imaginar que D es pequeña en comparación con cualquier dimensión de las placas para evitar el efecto de borde. Entre las placas hay sustancia fluida uniforme. Si una de las placas se deja en reposo mientras la otra se mueve con velocidad uniforme V_0 en una dirección paralela a su propio plano, en condiciones ideales el fluido sufre un movimiento deslizante puro y se crea un gradiente de velocidad de flujo de magnitud V_0/D en el mismo.

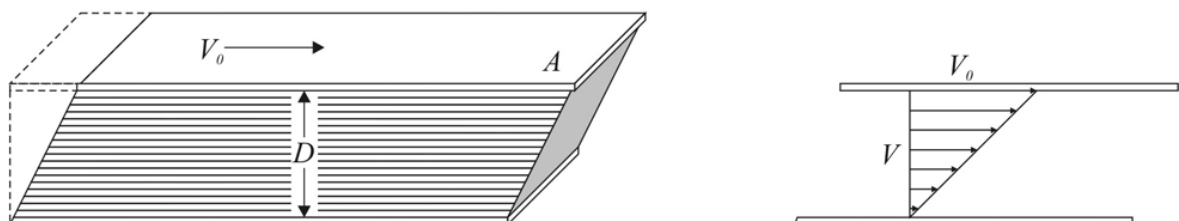


Figura 4. Ejemplo de Flujo laminar

Este es el ejemplo más sencillo de flujo laminar o flujo viscoso puro, en el que la inercia del fluido no juega un papel significativo en determinar la naturaleza de su movimiento. Para que se alcance un flujo laminar, la condición más importante que se debe cumplir es que la velocidad del flujo sea lenta. En el flujo laminar en un sistema con límites sólidos estacionarios, las trayectorias de cada elemento del fluido con masa infinitesimal no atraviesan ninguna de las superficies laminares estacionarias de la familia infinita de ellas que puede definirse en el sistema. En el ejemplo sencillo dado antes, estas superficies laminares son los infinitos planos paralelos a las placas. Cuando la velocidad del fluido crece, el flujo se hace turbulento y su momento lo lleva a través de esas superficies laminares en forma que se producen vórtices o remolinos.

En el ejemplo anterior, con flujo laminar, la fuerza F que resiste el movimiento relativo de las placas es proporcional al área A y al gradiente de velocidad

$$F = \eta A (V_0/D)$$

La constante de proporcionalidad η se llama coeficiente de viscosidad del fluido, o sencillamente la viscosidad del mismo. La unidad c.g.s. de la viscosidad es el Poise. Las viscosidades de los líquidos comunes son del orden de 1 cP; a 20°C, la viscosidad del agua es 1.0 cP; la del éter etílico es 0.23 cP y la de la glicerina de 830 cP. Las viscosidades de los gases son del orden de 100 a 200 μ P. La viscosidad de los líquidos y de los sólidos blandos disminuye con el aumento de la temperatura, en tanto que los gases aumentan al elevar la temperatura. Las viscosidades de todas las sustancias son virtualmente independientes de la presión a las presiones ordinarias, pero cambian a presiones muy elevadas y en los gases también a presiones muy bajas.

2.5.2 Viscosímetro de Ostwald

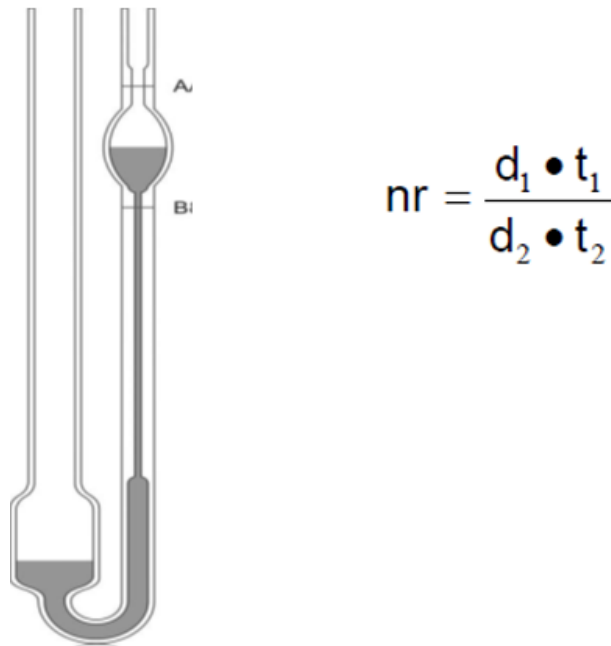
El método más sencillo para medir viscosidades es mediante un viscosímetro de Ostwald (véase Figura 6). En este tipo de viscosímetros, se determina la viscosidad de un líquido midiendo el tiempo de flujo de un volumen dado V del líquido en un tubo capilar bajo la influencia de la gravedad. Para un fluido virtualmente incompresible, como un líquido, este flujo está gobernado por la ley de Poiseuille de la forma:

$$\frac{dV}{dT} = \frac{\pi \cdot r^4 (p_1 - p_2)}{8 \cdot \eta \cdot L}$$

Donde dV/dt es la velocidad de flujo del líquido a lo largo de un tubo cilíndrico de radio r y de longitud L , y $(p_1 - p_2)$ es la diferencia de presiones entre los dos extremos del tubo. Dado que $(p_1 - p_2)$ es proporcional a la densidad del líquido en estudio, se puede demostrar que para un volumen total dado de un líquido:

$$\frac{\eta}{\rho} = K \cdot t$$

Donde t es el tiempo en que el menisco superior cae de la marca superior del viscosímetro a la inferior (de A - B) y K es una constante del aparato que debe determinarse por calibración con un líquido de viscosidad conocida (por ejemplo, agua).



*Figura 5.*Viscosímetro de Ostwald

La metodología empleada fue por el método de viscosímetro de Ostwald, se utiliza en fluidos newtonianos, donde la viscosidad está basada en el tiempo que tarda un determinado volumen de líquido en fluir a través de un orificio (del punto A-B) (Figura 6). Además se determinó las densidades de la muestra en estudio por Picnómetro. A continuación se aplicó la siguiente ecuación a cada tratamiento.

2.6 Evaluación Sensorial

La evaluación sensorial de alimentos es una disciplina científica usada para evocar, medir, analizar e interpretar reacciones hacia las características de los alimentos y materiales. La evaluación sensorial también nos proporciona información sobre la calidad de los alimentos evaluados y las expectativas de aceptabilidad de parte del consumidor (Liria, 2007).

Según Witting (2001), la investigación de los alimentos comprende, tanto la determinación de su calidad tecnológica a base de análisis físicos, químicos y

microbiológicos como de su calidad estética mediante la apreciación de sus características organolépticas. El método del análisis sensorial permite determinar en forma mucho más científica y objetiva que tanto influyen las características organolépticas en el consumidor en cuanto a aceptabilidad del alimento o bebida.

2.6.1 Escala de Intervalos o Lineal

Las escalas de intervalo permiten ordenar muestras, de acuerdo a la magnitud de una sola característica del producto o de acuerdo a la aceptabilidad o preferencia. Las escalas de intervalo permiten indicar el grado de diferencia entre muestras. En las escalas pueden identificarse en términos descriptivos o números. (Watts y otros, 1992)

2.6.2 Prueba hedónica

Las pruebas hedónicas están destinadas a medir cuanto agrada o desagrade un producto. Para estas pruebas se utilizan escalas categóricas, que pueden tener diferente número de categorías y comúnmente van desde “me gusta muchísimo “pasando por no me gusta ni me disgusta hasta me disgusta muchísimo “los panelistas indican el grado en que les grada cada muestra escogiendo la categoría apropiada. (Watts y otros, 1992)

CAPITULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugar de ejecución

El presente trabajo se realizó en los laboratorios del Centro de Investigación de Tecnología de Alimentos (CITAL) de la E.P. Ingeniería de Alimentos y en los laboratorios de química y análisis de aguas y en el laboratorio de microbiología de EP. Ingeniería Ambiental de la Universidad Peruana Unión-Filial Juliaca (3825 m.s.n.m.)

3.2 Materia prima

Se trabajó con “tarwi desamargado“ obtenida por el método denominado “cusco mejorado” de (Jacobsen & Mujica, 2006), proveniente del Mercado “15 de Agosto” de la Provincia de Yunguyo región Puno.

Cultivo probiótico (*Saccharomyces boulardii*), conocida industrialmente como Floratil 250mg/cap se adquirió de la farmacia “Mi Farma” de la ciudad de Juliaca.

3.3 Materiales y equipos

3.3.1 Materiales

- Tamizador
- Termómetro a mercurio rango 0 – 150°C
- Probeta graduada, capacidad de 500 y 250
- Elmermeyer PIREX
- Pipeta
- Botellas

- Placas Petri – PIREX
- Vasos precipitado de 250 ml - PIREX
- Pipetas de 10 mL/c/u
- Gradilla
- Tampones-
- Matraz – PIREX

3.3.2 Equipos

- Licuadora Marca Óster Mo 6885-051 de vidrio base metálico cromado.
- Refractómetro – ATAGO –N50
- Centrífuga Digital – Clay Adams Inc, Chatsworth. CA
- Autoclave – STURDY
- Baño maría con agitación y calentamiento – caja 25litros BS-11n 220 V.
- Microscopio – OLIMPUS CX23
- Cámara de Neubauer-Bright-line BOECO Germany de 0.100 mm. a 0.0025 mm².
- Balanza analítica
- Cronometro
- Potenciómetro
- Esterilizador
- Mechero de bunsen

3.3.3 Reactivos

- Hidróxido de sodio al 0.1N
- Alcohol 95%
- Agua destilada

3.4 Metodología Experimental

3.4.1 Proceso para la Elaboración de una bebida probiótica mediante la obtención del extracto acuoso de tarwi

Para la elaboración de la bebida probiótica de tarwi se siguió una serie de pasos consecutivos en la que en primer lugar se realizó el desamargado de la materia prima mediante el método de “CUSCO MEJORADO” (Jacobsen y Mujica, 2006) que consta de varias etapas como remojo, lavados, tratamiento de calor ver anexo 1. Luego se pasó a obtener extracto hidrosoluble del mismo mediante operaciones de remojo, licuado y filtrado según describe Gonzales (2011) en el anexo 2. Y para la elaboración de la bebida probiótica se procedió a pasteurizar, inocular e incubar adaptando la metodología de Quicazan y otros (2001) de una bebida fermentada de soya (Anexo 3) Para tal efecto se muestra el resumen del proceso en el diagrama de flujo de la Figura 6.

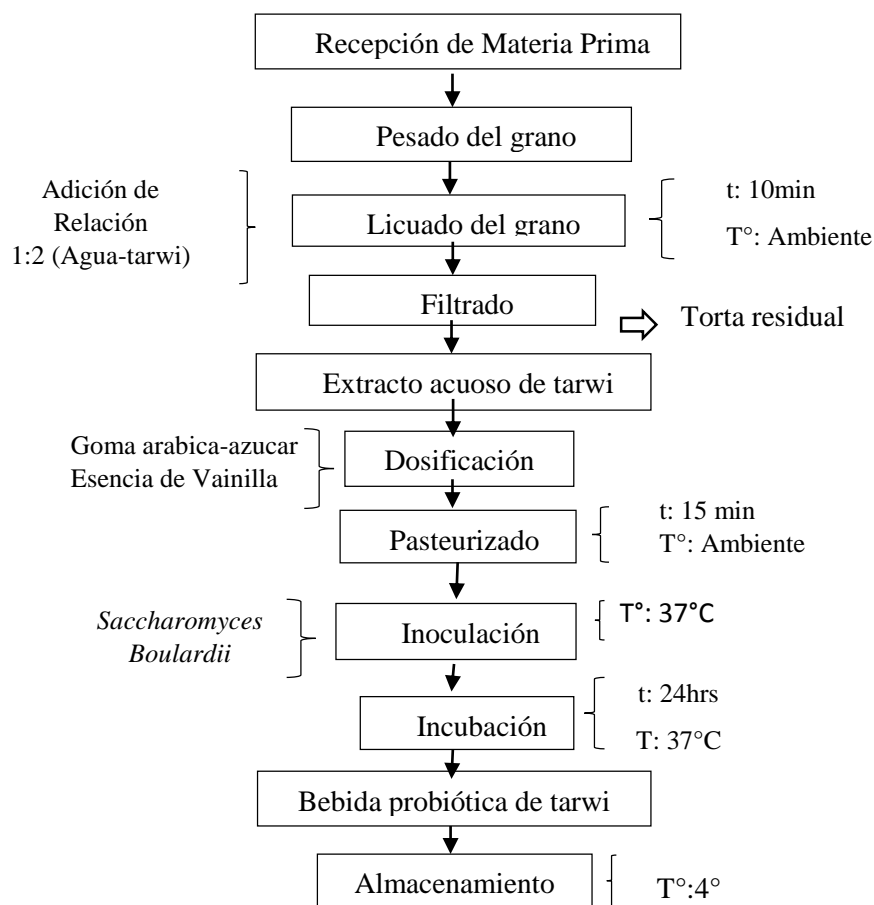


Figura 6. *Flujograma del proceso para la elaboración de bebida probiótica de tarwi*

Fuente: (Gonzales, 2011) y (Quicazan y otros, 2001)

3.4.2 Descripción del proceso

a. Materia prima

La materia prima (tarwi desamargado) obtenida por el método de “cusco mejorado” directamente de la provincia de Yunguyo.

b. Pesado del grano

Se pesó el grano de tarwi sin cáscara con el fin de ver su rendimiento

c. Trituración del grano

La trituración del grano se llevó a cabo con la ayuda de la licuadora por un tiempo de 5 min a temperatura ambiente a fin de lograr la tarta

d. Filtración

El producto obtenido se filtrará dos veces por medio con un lienzo color blanco con el fin de obtener la torta residual y extracto acuoso de tarwi.

e. Extracto acuoso de tarwi

El extracto obtenido libre de mucilagos se envasa en vaso precipitado

f. Dosificación

Una vez obtenida el extracto acuoso de tarwi, para la dosificación se calcula la cantidad de inóculo y azúcar para cada muestra.

g. Pasteurizado

El extracto acuoso de tarwi se pasteuriza a una temperatura de 60°C por 15 minutos para eliminar microorganismos que puedan alterar al producto final y así obtener un producto inocuo.

i. Inoculado

Se lleva al producto a enfriar a temperatura de 37°C con el fin de habituar el ambiente para la cepa probiótica liofilizada

j. Incubación

Se realiza el incubado a 37°C por 24 horas, durante la incubación se realiza simultáneamente el control del crecimiento de *Saccharomyces boulardii*, en el extracto acuoso de tarwi, respectivamente se realiza un control constante de pH, acidez, °Brix, viscosidad, densidad y conteo de levaduras.

k. Bebida probiótica

Se obtuvo la bebida probiótica de tarwi (*Lupinus Mutabilis Sweet*) fermentada con *Saccharomyces boulardii*.

m. Almacenado

Se almacena en la refrigeradora a temperatura de menos 4°C con el fin de conservar la bebida probiótica.

3.4.3 Evaluación del Crecimiento Cinético de *Saccharomyces Boulardii* en fase logarítmica en las bebidas porbióticas de tarwi.

En el proceso de evaluación de crecimiento cinético de *Saccharomyces Boulardii* en las bebidas probióticas de tarwi, se empleó de acuerdo al diseño experimental factorial 2², que consta de 2 factores y cada factor 2 niveles, realizándose un número de 4 corridas como se muestra en la Tabla 11 donde las variables independientes fueron la concentración de azúcar y la concentración de inóculo ver Tabla 10 y cuyas constantes son la concentración de vainilla, concentración de goma arábica.

Tabla 10.

Variables Independientes

N°	Variables	Min	Max
		1	-1
1	% Concentración de Sacarosa	6	12
2	% Concentración de Inoculo	2	4

Según Yegres y otros (2003) la aplicación de azúcar en los procesos de fermentación de las levaduras es muy importante ya que brindan el impulso para el inicio de activación de *Saccharomyces boulardii* durante el proceso fermentativo.

Tabla 11.

Tratamientos por el método de factorial

Corridas	Columna	
	1	-1
1	1	1
2	1	-1
3	-1	1
4	-1	-1

3.4.3.1 Preparación del Inoculo

Se preparó un pre inoculo denominado cultivo madre en un matraz con relación de 1:1(cepa liofilizada-leche desnatado) adicionando una concentración de 250 mg de *Saccharomyces boulardii* incubado a 37° por 12 horas de acuerdo a la Figura 7.

Este cultivo madre se utilizó para inocular a las muestras preparadas de acuerdo al diseño factorial de la Tabla 11, siendo estas encubadas a 37 °C por 24 horas. El medio utilizado para el cultivo fue de forma estéril al medio previamente tratado a 121°C/15 min. Esta técnica fue utilizada en *Lactococcus Lactis subsp. Lactis* en leche y fue descrita por Valbuena, 2005.

La lectura de recuento se realizó por triplicado, mediante el método directo “recuento en cámara de Neubauer” y se reportaron como Log (ufc/ml) para la obtención de parámetros cinético de acuerdo al modelo matemático de Gompertz.

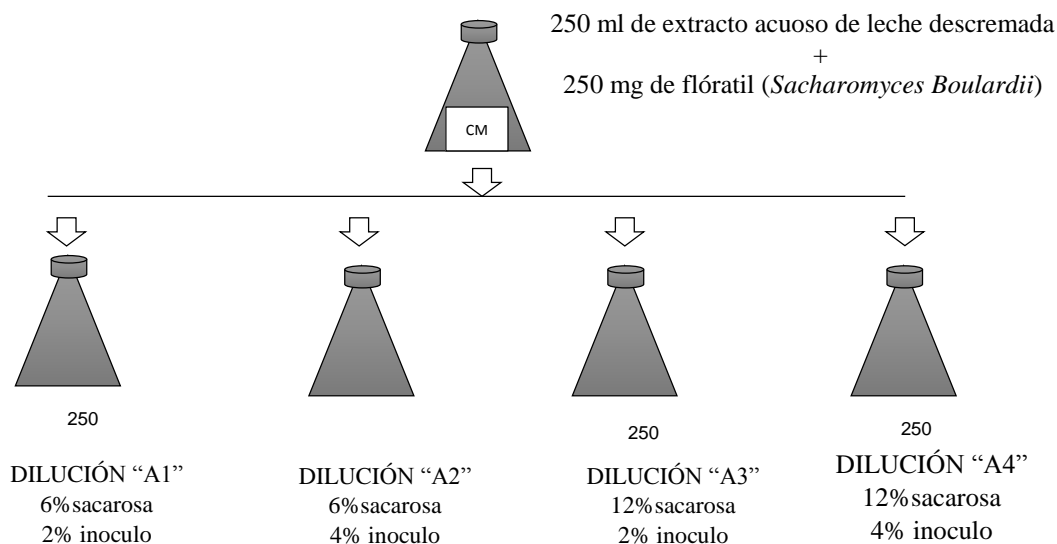


Figura 6. Diluciones para evaluar el crecimiento de *saccharomyces Boulardii* a 37°C/24 horas

Fuente: adaptado a (Pereira y otros 2009) durante el proceso fermentativo las muestras serán monitoreadas en intervalos de tres horas por 24 horas.

3.4.3.2 Parámetros evaluados durante el proceso fermentativo cinética fermentativo

Durante el tiempo de fermentación de 24 horas se analizaron los siguientes parámetros mostrados en la Tabla 12, todos se llevaron a cabo por triplicado y los resultados se expresan con su respectiva desviación estándar así como también se observa el análisis de varianza (ANOVA)). Los valores de $p < 0,05$ se consideraron estadísticamente significativa.

Tabla 12.

Propiedades Fisicoquímicas

Características (Unides)	Método	Anexo
Conteo de levaduras	Cámara de Neubauer Método descrita por (Mauricio, Nieto, Felipe, & Florez, 2001)	Anexo 11
Sólidos Totales	925,105/90	Anexo 6
pH	AOAC 981,12/90	Anexo 4
Acidez titulable	946,05/90	Anexo 5
Densidad	Picnómetro	Anexo 14
Viscosidad	Oswald	Anexo 13

3.4.3.3 Evaluación estadística del Crecimiento microbiano.

Para realizar dicha evaluación de los datos obtenidos y construcción de gráficos se utilizó el software Statistica V. 10 a un nivel de significancia de 0.05; asimismo también se utilizó el software Microsoft Excel 2010 para la corroboración y validación de los mismos.

3.4.4 Metodología en la Evaluación Sensorial.

3.4.4.1 Prueba Discriminativa

El análisis sensorial de las muestras de bebida de tarwi fue realizado por 15 jueces semi-entrenados seleccionados de la carrera profesional de Ingeniería de Alimentos- UPeU Juliaca entre hombres y mujeres. Cada juez recibió cuatro muestras debidamente codificados como: 184 (bebida A); 121(Bebida B); 423(bebida C); 241(bebida D) los cuales fueron producidos en el laboratorio de CITAL. Los jueces evaluaron los atributos correspondientes al color, olor, textura, sabor y apariencia General de modo que se conozca el grado de aceptación o grado de satisfacción del producto se utilizó fichas Ver Anexo 13. Con evaluación de escala lineal estructurada de 9 puntos, donde los extremos se encuentran en términos de "9 - me gustó muchísimo" y "1- me disgustó muchísimo" y el centro "ni me gusto, ni me disgusto 5, las notas entre 7 y 9 (me gusto regularmente y me gustó muchísimo) tal y como se muestra en la Tabla 13. (Peryam y Pilgrim, 1957) y (Watts y otros, 1992)

Para analizar los resultados de la escala lineal, las marcas de los panelistas se convierten en puntajes numéricos midiendo la distancia en cm entre el extremo izquierdo o punto de menor intensidad en la escala y las marcas de los panelistas, convirtiéndolas

mediante la proporción de 0,5 cm = 1 unidad del puntaje. Los puntajes numéricos de cada muestra se tabulan y analizan mediante el análisis de varianza (ANOV A) para determinar si existen diferencias significativas entre las muestras. (Watts y otros 1992)

Tabla 13

Rango de puntos para la evaluación sensorial.

Escala	Puntaje
Me gusta muchísimo	9
Me gusta mucho	8
Me gusta moderadamente	7
Me gusta poco	6
No me gusta, ni me disgusta	5
Me disgusta poco	4
Me disgusta moderadamente	3
Me disgusta mucho	2
Me disgusta muchísimo	1

Nota: Prueba Hedónica

3.4.5 Caracterización fisicoquímica y composición proximal. al producto final

La caracterización fisicoquímica y composición proximal de la bebida probiótica de tarwi fue realizado por el laboratorio externo perteneciente a la UNA (Universidad Nacional del Altiplano Puno). Según el método de la AOAC, como se observa en la Tabla 14.

Tabla 14

Determinación de las Características fisicoquímicas proximal de la bebida probiótica.

PARÁMETROS	METODO	Anexo
Potencial de Hidrógeno	AOAC 981,12/90	Anexo 04
Porcentaje de Materia Seca	Evaporación/105 °C	Anexo
Porcentaje de Humedad	AOAC 925,10,1996	Anexo 10
Porcentaje de Proteína	AOAC,1984	Anexo 09
Porcentaje de Grasas	AOAC 985,15,1990	Anexo 07
Porcentaje de Cenizas	AOAC 1990	Anexo 08
Acidez como Ácido Láctico	Volumetría/NAOH : 0.1N	Anexo 05
Porcentaje Alcohólico	Destilación/Alcoholímetro	Anexo 12
Porcentaje de Sólidos Totales	Evaporación/105 °C	Anexo 06
Densidad	Picnómetro/15 °C	Anexo

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 Obtención del extracto acuoso de tarwi

Al obtener el extracto acuoso de tarwi se observó que la mejor concentración en la preparación es en una relación de 1:2(tarwi-agua). Por lo que alcanza las exceptivas de análogo de leche de tarwi en cuanto a los °brix, pH, densidad, viscosidad. Tal y como se observa en la Tabla 15. Así como también Villacres y otros, (2006) en su boletín denominado “usos alternativos de chocho” muestra que para obtener el extracto acuoso de tarwi se de una relación 1:2(tarwi-agua).

Tabla 15

Caracterización física del extracto acuoso de tarwi.

Parámetros		Promedio		Desviación estándar
Sólidos Totales	°Brix	3.3	±	0.2081666
Ph		6.19	±	0.14933185
Densidad	g/ml	1.015	±	0.00728583
Viscosidad	Cp.	5.4	±	0.00728583

El extracto acuoso de tarwi posee un color blanco cremoso semejante a la leche de vaca, cuyas características físicas poseen un promedio de sólidos totales 3.3°brix, pH 6.19, densidad 1.015g/ml y viscosidad 5.4 Cp. Entre tantos esos resultados están próximos a las características físicas de la leche de vaca e acuerdo a (Indecopi, 2003) la leche de vaca presenta una densidad de un rango de 1.0292-10340 g/ml.

4.2 Evaluación del crecimiento cinético de *Saccharomyces Boulardii* en fase logarítmica en el extracto acuoso de Tarwi.

A continuación se observa los resultados obtenidos en cuanto al conteo de levaduras, pH, acidez Titulable, Viscosidad, solidos solubles y densidad, durante el tiempo de fermentación con el fin de ver la acción de *Saccharomyces boulardii*

4.2.1 Monitoreo del conteo de levaduras (*Saccharomyces boulardii*) durante el proceso fermentativo de las bebidas

A lo largo de las 24 horas de incubación de las diferentes muestras de bebida fermentadas con *Saccharomyces boulardii* el crecimiento de esta levadura en sus diferentes concentraciones de sustrato mostraron que no hay significancia en los tratamientos con una confiabilidad de ($p < 0,05$) como se observa en la Tabla 16.

Tabla 16.

Análisis de varianza respecto al crecimiento microbiano

ANOVA :Crecimiento Microbiano					
R-sqr=.08492 ; Abj:0 ; MS: Residual=.0402065					
Factor	SS	Df	MS	F	P
(1)%Sacarosa	0.036154	1	0.036154	0.899219	0.350098
(2)%Inoculo	0.083219	1	0.083219	2.069782	0.159953
1 y 2	0.000023	1	0.000023	0.000575	0.981011
Error	1.286609	32	0.040207		
Total SS	1.406006	35			

Es decir que el % sacarosa y % de inoculo no influye en el crecimiento de *saccharomyces boulardii* ya que su acción de crecimiento son similares.

Según Diaz y otros (2011) este fenómeno se debe a que la levadura en estudio no solamente consume el azúcar del medio sino que puede hacer uso de otras fuentes

carbonadas tal es el caso de los carbohidratos presentes en el medio acuoso demostrando así que *Saccharomyces boulardii* puede desarrollarse en ausencia de sacarosa.

De igual manera Quintero y otros (2001) en su estudio de la producción de Proteína microbiana (*K. fragilis*) a partir de suero de leche demostró que el sustrato necesario para estas levaduras pueden ser fuentes de carbono como proteínas y otras sustancias carbonadas.

Por lo tanto se demuestra que el azúcar solo actuó como impulsor de la fermentación pero no fue determinante en el proceso de fermentación según lo declara Rodriguez y otros (2014).

En la siguiente Tabla 17 se presenta los resultados obtenidos en cuanto al monitoreo del crecimiento de *Saccharomyces boulardii*, esto en intervalos de 3 horas por 24 horas. Como también se puede apreciar notablemente las diferencias entre el número de ufc de los diferentes tratamientos.

Tabla 17.

El crecimiento de la *Saccharomyces boulardii* en cada 3 horas por 24 horas.

Tiempo	A1(6%CS+2%CI)			A2(6%CS+4%CI)			A3(12%CS+2%CI)			A4(12%CS+4%CI)		
	ufc/ml	Ufc/ml	Log(ufc/ml)	ufc/ml	Ufc/ml	Log(ufc/ml)	ufc/ml	Ufc/ml	Log(ufc/ml)	ufc/ml	Ufc/ml	Log(ufc/ml)
0	37333333.33	37x10 ⁶	7.5721	60000000	60x10 ⁶	7.778	56000000	56x10 ⁶	7.748	69333333.3	14x10 ⁶	7.841
3	64000000	64x10 ⁶	7.80618	92000000	92x10 ⁶	7.964	88000000	88x10 ⁶	7.944	108000000	10x10 ⁷	8.033
6	109333333.3	10x10 ⁷	8.03875	136000000	13x10 ⁷	8.134	129333333	12x10 ⁷	8.112	158666667	15x10 ⁷	8.200
9	138666666.7	13x10 ⁷	8.14197	197333333	19x10 ⁷	8.295	181333333	18x10 ⁷	8.258	234666667	23x10 ⁷	8.370
12	176000000	17x10 ⁷	8.24551	226666667	22x10 ⁷	8.355	193333333	19x10 ⁷	8.286	250666667	25x10 ⁷	8.399
15	184000000	18x10 ⁷	8.26482	209333333	20x10 ⁷	8.321	188000000	18x10 ⁷	8.274	244000000	24x10 ⁷	8.387
18	172000000	17x10 ⁷	8.23553	197333333	19x10 ⁷	8.295	180000000	18x10 ⁷	8.255	220000000	22x10 ⁷	8.342
21	160000000	16x10 ⁷	8.20412	170666667	17x10 ⁷	8.232	169333333	16x10 ⁷	8.229	197333333	19x10 ⁷	8.295
24	149333333.3	14x10 ⁷	8.17416	154666667	15x10 ⁷	8.189	145333333	14x10 ⁷	8.162	178666667	17x10 ⁷	8.252

Nota: CS: concentración de sacarosa ; CI: Concentración de Inóculo.

Los valores alcanzados en el crecimiento microbiano varia de 6-7 log en las diferentes concentraciones de las muestras, también cabe resaltar que el punto más alto de crecimiento que alcanza las muestras son: 8.2648 Log(ufc/ml) a las 15horas A1(6%CS+2%CI); 8.355Log(ufc/ml) alas 12horas A2(6%CS+4%CI); 8.286 Log(ufc/ml) a las 12 horas A3(12%CS+2%CI); 8.399 Log (ufc/ml) a las 12 horas A4(12%CS+4%CI). A comparación de las muestras la A2, A3, A4 a las 12 horas alcanza su punto de crecimiento más alto mientras A1 retarda su punto de crecimiento alcanzando a las 15 horas esto se debería a la concentración preparada que está dada un 6% sacarosa,2% de inculo.

Fajardo y Sarmiento, 2007 en Bogotá realizo una investigación denominada: evaluación de melaza de caña como sustrato para la producción de *Saccharomyces cerevisiae*, y obteniendo los siguientes resultados: la fermentación de *Saccharomyces boulardii*, la fase exponencial o logarítmica va desde la hora 8 hasta la hora 14, teniendo una fase de adaptación a tres concentraciones; su máximo crecimiento en 10% en la hora 16, en 20% en 30% en la hora 14%. En la comparación al consumo de sustrato, consume menos sustrato que *Saccharomyces cerevisiae*, por ser una levadura comercial liofilizada para fines probióticos. Asimismo, la mayor producción de biomasa obtuvo en la concentración del 20 %.

4.3 Parámetros cinéticos de crecimiento microbiana

En la Tabla 18 se muestran los resultados obtenidos en cuanto a los parámetros cinéticos donde se detalla valores como la velocidad de crecimiento, duración de la fase de latencia, el tiempo de generación de cada una de las pruebas realizadas

Tabla 18.

Parámetros cinéticos de Saccharomyces boulardii en las diferentes muestras bebida probióticas de tarwi

Trat	a	b	c	μ_m	λ	G
A1(6%CS+2%CI)	0.652454	1.295864	0.407542	0.26590217	0.72597325	2.60677515
A2(6%CS+4%CI)	0.50392578	1.55483205	0.49573845	0.24981539	1.11920319	2.77463766
A3(12%CS+2%CI)	0.497192	1.462784	0.492508	0.24487109	0.93964786	2.83066158
A4(12%CS+4%CI)	0.49974009	1.54913368	0.51051076	0.25512269	1.07565546	2.71691703

Nota: a, b, c: constantes; μ_m Velocidad Especifica; λ : duración de la fase de latencia; G: tiempo de generación); CS: concentración de sacarosa ; CI: Concentración de Inóculo.

Las velocidades específicas de crecimiento de *saccharomyces boulardii* fueron: 0.265 log(ufc((ml/hs)) en la muestra A1(6%CS+2%CI); 0.2498 log(ufc((ml/hs)) en la muestra A2(6%CS+4%CI); 0.2448 log(ufc((ml/hs)) en la muestra A3(12%CS+2%CI, 0.2551 log(ufc((ml/hs)) en la muestra A4(12%CS+4%CI). Las duraciones de la fase de latencia fueron de 0.7259 horas en la muestra A1(6%CS+2%CI) 1.1192 horas en la muestra A2(6%CS+4%CI); 0.9396 horas en la muestra A3(12%CS+2%CI); 1.0756 horas en la muestra A4 (12%CS+4%CI) y por último la máxima densidad de la población de *saccharomyces boulardii*

Ya que la aplicación de la ecuación de cinética microbiana es relevantes a una amplia categoría de alimentos podrían reducir la necesidad de exámenes microbiológicos, permitiendo así un considerable beneficio económico (Coll y otros 2001). Las desventajas que podrían presentarse serían que las predicciones no fueran del todo precisas indicando solamente una tendencia (Chang, citados por Coll y otros 2001). Tampoco nos será posible predecir fuera del rango de condiciones en el cual se hicieron los experimentos y se modelaron los resultados (Coll y otros 2001).

En la Figura 8 se muestran gráficamente las curvas de crecimiento de la cepa probiótica *Saccharomyces boulardii* en los distintos medios de bebida probiótica de tarwi.

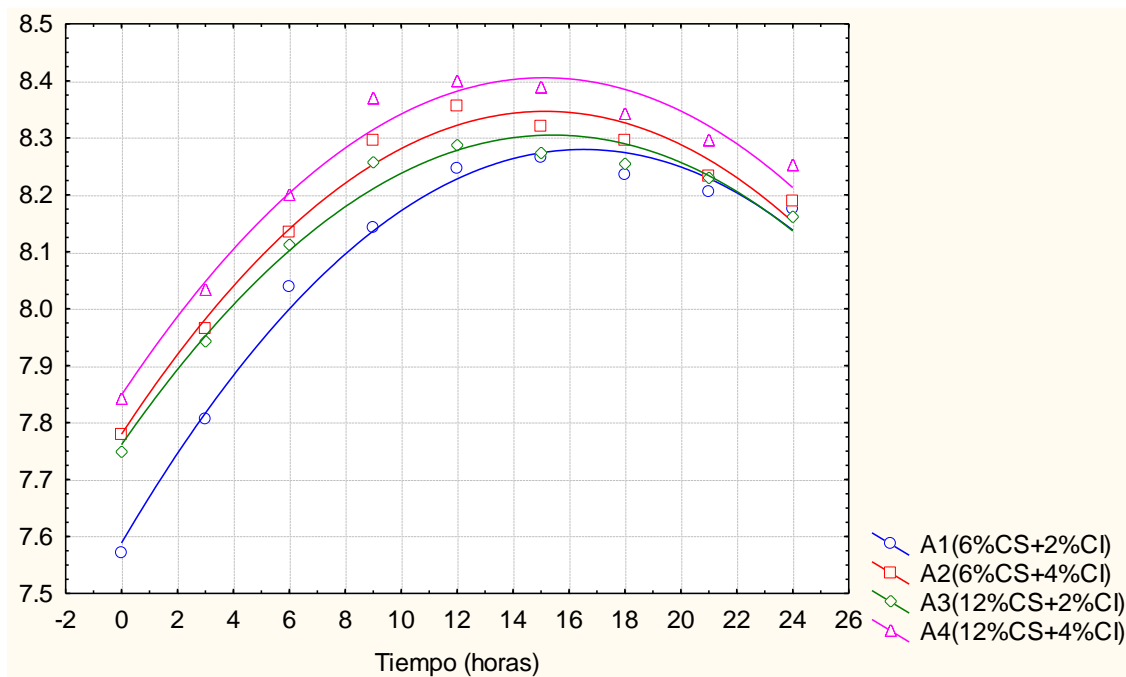


Figura 7. Curva de crecimiento de *saccharomyces boulardii* en las diferentes formulaciones de bebida probiótica de tarwi.

Estas curvas que se muestran en la Figura 8 se realizaron con el fin observar las diferencias entre las cuatro muestras en cuanto a su acción crecimiento de *Saccharomyces boulardii* durante el tiempo de fermentación

Estudios realizados muestran por los resultados obtenidos indican que en todos los medios evaluados, el desarrollo de *Saccharomyces boulardii* siguió una curva similar típica del crecimiento microbiano los resultados expresan en la Figura 10 muestran que en las primeras horas presenta un bajo crecimiento y partir de las 12 horas *Saccharomyces Boulardii* su crecimiento acelera

La bebida probiótica de *Saccharomyces boulardii* presentó un crecimiento 10^8 y 10^9 ufc atendiendo a los requisitos para que se denomine probiótico (Rao et al., 2009) Hay varios factores que deben tenerse en cuenta cuando se utilizan bacterias probióticas en los productos fermentados como el yogur. En primer lugar, los probióticos deben ser viables y presente en alto recuento en el momento de consumo para conseguir los beneficios deseados. Por lo tanto, un producto lácteo probiótico debe contener al

menos 6-7 Log UFC.g-1 de bacterias probióticas viables en el momento del consumo y, deben esta consume regularmente en una cantidad de mayor que 100 g por día Según el (Codex, 2003).

Los resultados obtenidos indican que en todas las bebidas de tarwi *Saccharomyces Boulardiii* siguió una curva típica del crecimiento microbiano. Compuesto por una fase de latencia exponencial , estacionaria y una fase de declive no obstante el comportamiento de la cepa probiótica vario en función de la concentración preparada y como era de esperar el mayor desarrollo de *Saccharomyces boulardii* se produjo en A4(12% sacarosa, 4 % inculo), presenta valor alto.

4.3.1 Monitoreo de los °Brix durante el proceso fermentativo de las bebidas

Los resultados indican significancia ($p < 0.05$) según el análisis de varianza (Tabla 18) lo que quiere decir que la concentración de sacarosa interfiere en su desarrollo.

Tabla 19.

Análisis de varianza variable °Brix.

ANOVA : °Brix					
R-sqr=95391 ; Abj:.94959 ; MS: Residual=.4121829					
Factor	SS	df	MS	F	P
(1)% Sacarosa	272.7067	1	272.7067	661.6157	0
(2)% Inculo	0.0014	1	0.0014	0.0034	0.954196
1 y 2	0.2779	1	0.2779	0.6742	0.417657
Error	13.1899	32	0.4122		
Total SS	286.1758	35			

Como se observa en la Tabla 20 se muestra los datos obtenidos acerca del comportamiento de los ° Brix conforme va pasando el tiempo de fermentación en los 4 diferentes tratamientos.

Tabla 20.

Variación del ° Brix durante la fermentación de la bebida de tarwi

Tiempo(h)	A1(6%CS+2%CI)	A2(6%CS+4%CI)	A3(12%CS+2%CI)	A4(12%CS+4%CI)
0	6.587 ± 0.006	7.03 ± 0.057	12.5 ± 0.5	12.03 ± 0.057
3	6.477 ± 0.025	6.50 ± 0.5	11.767 ± 0.208	11.833 ± 0.289
6	6.407 ± 0.055	6.333 ± 0.289	11.667 ± 0.416	11.767 ± 0.252
9	6.317 ± 0.275	6.833 ± 0.289	11.533 ± 0.058	11.580 ± 0.072
12	6.213 ± 0.103	6.167 ± 0.289	11.400 ± 0.100	11.417 ± 0.076
15	5.433 ± 0.115	5.573 ± 0.127	11.533 ± 0.351	11.250 ± 0.312
18	5.077 ± 0.025	5.547 ± 0.142	11.467 ± 0.058	11.300 ± 0.100
21	5.200 ± 0.255	5.197 ± 0.225	10.967 ± 0.058	10.900 ± 0.173
24	4.733 ± 0.321	4.957 ± 0.191	10.733 ± 0.208	10.020 ± 0.017

Como podemos apreciar en la Figura 9, existe una disminución constante de los azúcares (°brix) durante las 24 horas de fermentación en las diferentes muestras de bebida preparadas, Esto se debería a que *Saccharomyces boulardii* estaría consumiendo los compuestos carbonatados presentes en el sustrato. Así como lo menciona Mosquera y otros (2008) que la disminución de grados °Brix puede estar asociada con el consumo de compuestos carbonados.

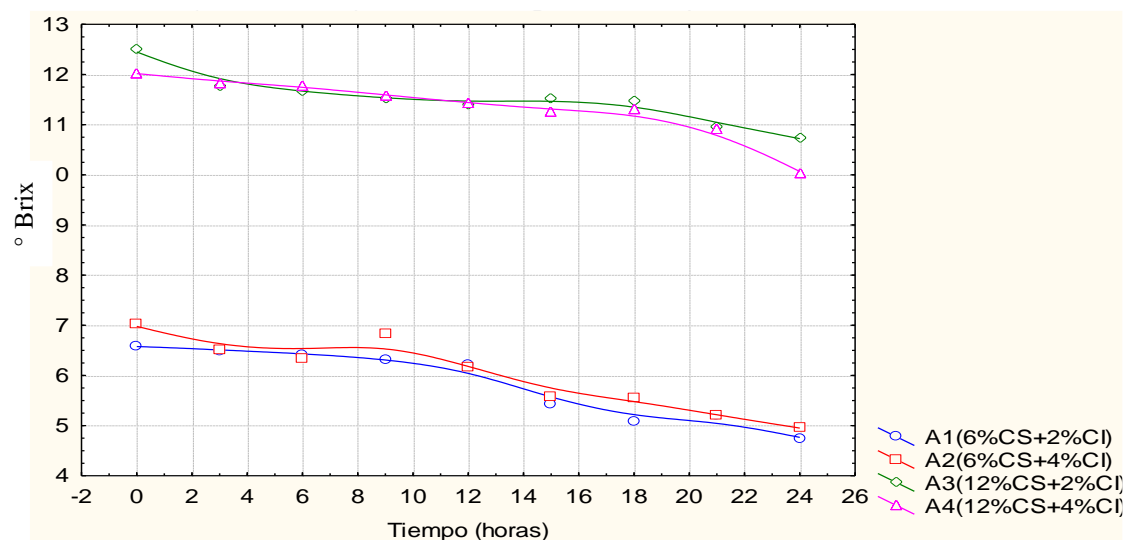


Figura 8. Comportamiento de los °Brix

4.3.2 Monitoramiento del pH durante el proceso fermentativo de las bebidas

En proceso de fermentación llevado a cabo no mostro significancia en cuanto a su pH tal como se observa en la Tabla 20.

Tabla 21.

Análisis de Varianza variable pH

ANOVA :pH						
R-sqr=.0265; Abj:0 ; MS: Residual=.2947235						
Factor	SS	Df	MS	F	P	
(1)%Sacarosa	0.216227	1	0.216227	0.733659	0.398069	
(2)%Inoculo	0.033815	1	0.033815	0.114734	0.737030	
1 y 2	0.006669	1	0.006669	0.022629	0.881371	
Error	9.431153	32	0.294724			
Total SS	9.687863	35				

En la Tabla 22 se presenta los resultados del comportamiento del pH en las bebidas durante la etapa de fermentación

Tabla 22.

Datos obtenidos del pH seguidas de la desviación estándar

Tiempo(h)	A1(6%CS+2%CI)	A2(6%CS+4%CI)	A3(12%CS+2%CI)	A4(12%CS+4%CI)
0	6.57333 ± 0.37541	6.57333 ± 0.34933	6.78000 ± 0.02000	6.90667 ± 0.00577
3	6.02333 ± 0.06807	6.48667 ± 0.12503	6.70667 ± 0.02309	6.70667 ± 0.07572
6	5.84667 ± 0.02517	6.41333 ± 0.23965	6.65000 ± 0.01000	6.46667 ± 0.05774
9	5.74333 ± 0.05859	6.33333 ± 0.13051	6.12000 ± 0.40632	6.43667 ± 0.03512
12	5.67667 ± 0.04041	5.67667 ± 0.01155	5.60333 ± 0.00577	5.59000 ± 0.02646
15	5.62000 ± 0.08660	5.56667 ± 0.01528	5.54667 ± 0.01155	5.56000 ± 0.01000
18	5.58000 ± 0.12124	5.51333 ± 0.01528	5.49333 ± 0.00577	5.50333 ± 0.00577
21	5.54667 ± 0.15011	5.46000 ± 0.00000	5.44667 ± 0.00577	5.47000 ± 0.01732
24	5.50667 ± 0.18475	4.89000 ± 0.52421	5.41000 ± 0.01732	5.42333 ± 0.02082

A continuación se presenta la Figura 10 donde se observa el control del pH durante el tiempo de fermentación de *Saccharomyces boulardii*.

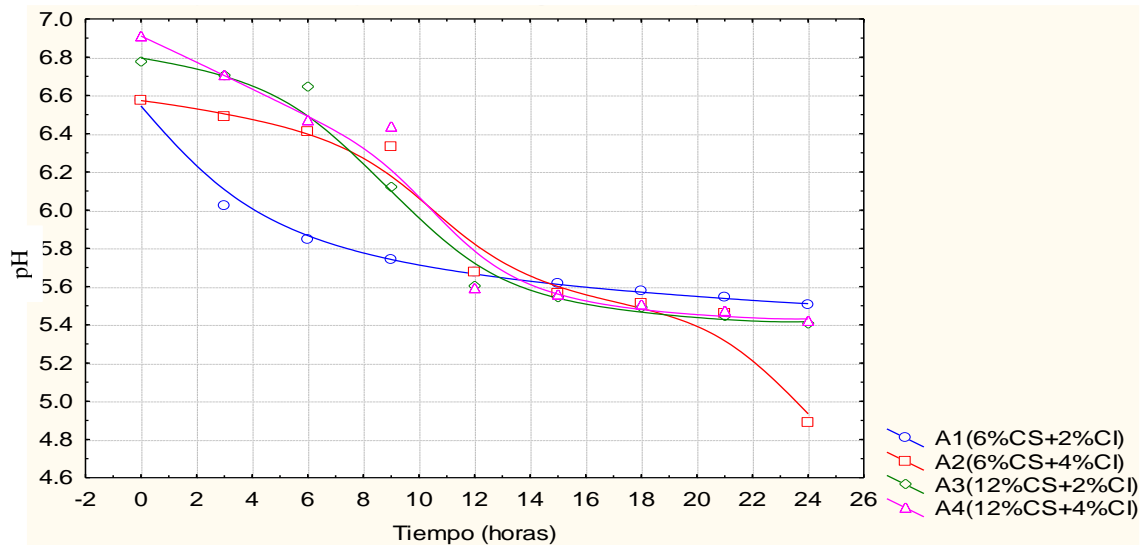


Figura 9. Variación del pH durante el proceso fermentativo de *Saccharomyces boulardii* en la bebida probiótica de tarwi.

Nota: CS: Concentración de Sacarosa ; CI: Concentración de Inóculo.

Como podemos apreciar en la Figura 10, existe una la disminución acelerada en el pH descendiendo desde 6.9 a 4.8 durante el proceso fermentativo de las muestras, El comportamiento de pH de las muestras son similares. Cabe resaltar que en las muestras de 12% de concentración de sacarosa la descendencia de su pH es mayor pero no significativo según el ANOVA (Tabla21) en comparación con las 4 muestras. . Según Vicente y otros (1997) el comportamiento de la disminución de su pH es normal ya que en la fermentación de levaduras en su actividad metabólica es la causante de intercambios de protones en medio y la cantidad de ácido o base consumo que se debe a la asimilación de nitrógeno. Además Durante la fermentación , las levaduras pueden producir alcohol y CO así como también se generan otros sub productos que pueden bajar el pH del medio de cultivo es por ello que se hace necesario controlar el pH para mitigar el efecto que se muestra.

Por otro lado la disminución del pH está relacionada con el incremento de la concentración de ácidos orgánicos la cual es el resultado del consumo de carbohidratos de fácil fermentación (Calderón y otros, 2005)

4.3.3 Monitoramiento de la acidez titulable durante el proceso fermentativo de las bebidas.

En la siguiente Tabla 23 se observa el análisis de varianza ANOVA en cuanto a la acidez, donde se muestra que no hay significancia, con una confiabilidad de ($p < 0.05$)

Tabla 23

Análisis de Varianza Variable Acidez

ANOVA :Acidez					
R-sqr= .02786; Abj:.02786 ; MS: Residual=1.417836					
Factor	SS	Df	MS	F	P
(1)%Sacarosa	0.22501	1	0.225008	0.158698	0.693004
(2)%Inoculo	1.02263	1	1.022627	0.721259	0.402040
1 y 2	0.05256	1	0.052556	0.037067	0.848544
Error	45.37074	32	1.417836		
Total SS	46.67093	35			

En la siguiente Tabla 24 se presenta los resultados promedio obtenidos en cuanto al monitoreo de la acidez en las distintas muestras.

Tabla 24.

Variación de la acidez durante la fermentación de bebida probiótica de tarwi.

Tiempo(h)	A1(6%CS+2%CI)	A2(6%CS+4%CI)	A3(12%CS+2%CI)	A4(12%CS+4%CI)
0	0.1911 ± 0.0141	0.159 ± 0.0052	0.288 ± 0.009	0.168 ± 0.0275
3	0.285 ± 0.0341	0.168 ± 0.0453	0.312 ± 0.01039	0.321 ± 0.0275
6	0.318 ± 0.0208	0.318 ± 0.09237	0.4221 ± 0.15467	0.405 ± 0.03923
9	0.348 ± 0.0924	0.366 ± 0.07494	0.654 ± 0.2932	0.93 ± 0.10235
12	1.6827 ± 0.2904	2.3688 ± 0.0542	1.884 ± 0.08117	2.7156 ± 0.01803
15	2.031 ± 0.0651	2.643 ± 0.04957	2.031 ± 0.06511	2.955 ± 0.09367
18	2.112 ± 0.2944	2.724 ± 0.19745	2.112 ± 0.29444	3.021 ± 0.11253
21	2.133 ± 0.0886	2.82 ± 0.13748	2.133 ± 0.08864	3.027 ± 0.08166
24	3.054 ± 0.1024	2.934 ± 0.21824	3.054 ± 0.10235	3.069 ± 0.05902

Nota: CS: Concentración de Sacarosa; CI: Concentración de Inóculo

En la Figura 11 se presenta el comportamiento de la acidez en las diferentes concentraciones de las bebidas, en todos los casos se observa un aumento en la acidez de las bebidas, siendo mayor para las bebidas A4 (12%CS+4%CI) y A2 (6%CS+4%CI) con concentración de sacarosa mixto 12-6% y concentraciones de cultivo iguales. Los resultados obtenidos para la fermentación de bebida probiótica de tarwi con la adición de cultivo en proporción del 2% presenta la disminución de la acidez.

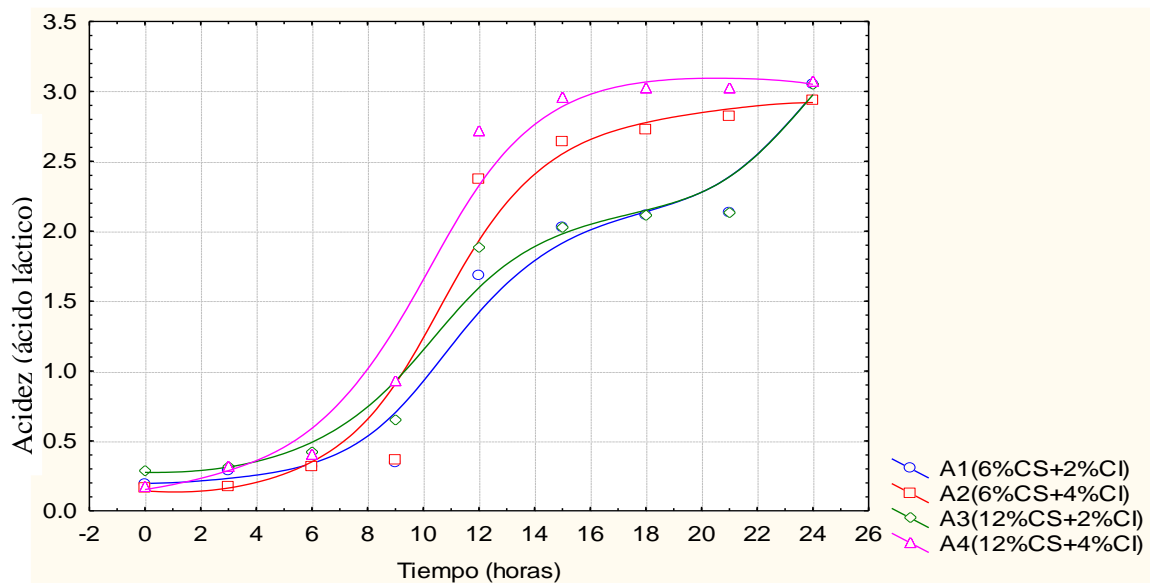


Figura 10. Comportamiento de la acidificación durante la fermentación de la bebida de tarwi con diferente contenido de sólidos e inóculo

Nota: CS: concentración de sacarosa ; CI: Concentración de Inóculo.

Como se observa en la siguiente Figura 11 se midió el porcentaje de ácido láctico que contiene debido a que las mayorías de los probióticos que producen ácido láctico.

El aumento de la acidez según Gabriela y Renteria (2010) menciona que su aumento significa la alteración con los siguientes efectos en el sabor y el color y el fin de su vida útil.

4.3.4 Monitoreo de la densidad durante el proceso fermentativo de las bebidas

En la siguiente Tabla 25 se muestra el análisis de varianza respecto a la densidad el cual muestra significancia con una un nivel de confiabilidad de 0.05

Tabla 25.

Análisis de Varianza Variable densidad

ANOVA :Densidad						
R-sqr=.89245; Abj:.88236 ; MS: Residual=.00000007						
Factor	SS	df	MS	F	P	
(1)% Sacarosa	0.000189	1	0.000189	264.8815	0.000000	
(2)% Inoculo	0.000000	1	0.000000	0.1159	0.735738	
1 y 2	0.000000	1	0.000000	0.5306	0.471640	
Error	0.000023	32	0.000001			
Total SS	0.000212	35				

Los resultados de la Tabla 26 muestran las variaciones promedios de la densidad más la desviación estándar.

Tabla 26.

Variación de la densidad durante la fermentación de las bebidas probióticas de tarwi.

Tiempo(h)	g/ml			
	A1(6% CS+2% CI)	A2(6% CS+4% CI)	A3(12% CS+2% CI)	A4(12% CS+4% CI)
0	1.0071 ± 0.0004	1.007419 ± 0.00014	1.012725 ± 0.00093	1.01249035 ± 0.00035
3	1.0071 ± 0.0003	1.007302 ± 7.8E-06	1.012389 ± 0.00056	1.01195083 ± 0.0007
6	1.007 ± 0.0003	1.006819 ± 0.00045	1.012346 ± 0.00166	1.01158613 ± 0.0001
9	1.007 ± 0.0005	1.006747 ± 0.00028	1.011288 ± 0.00037	1.01147612 ± 0.00139
12	1.0068 ± 0.0004	1.006262 ± 0.00074	1.010885 ± 0.00121	1.01130733 ± 0.00133
15	1.0068 ± 0.0003	1.006194 ± 0.0005	1.010527 ± 0.00058	1.01098331 ± 0.00076
18	1.0066 ± 0.0005	1.006188 ± 0.0006	1.009867 ± 0.00085	1.01073917 ± 0.00068
21	1.0056 ± 0.0011	1.005805 ± 0.0011	1.009446 ± 6.9E-05	1.01064724 ± 0.00084
24	1.0055 ± 8E-06	1.005781 ± 0.00137	1.009416 ± 0.00012	1.01041667 ± 0.0003

Nota: CS: concentración de sacarosa ; CI: Concentración de Inóculo.

En la siguiente Figura 12 se muestra la disminución de la densidad conforme va pasando el tiempo según (Quicazan, 2001) en su trabajo de bebida fermentada determinaron los cambios de la densidad durante el tiempo de fermentación el cual vario

de 1.0219 a 1.0117 g/cm conforme iba pasando el tiempo esto en la elaboración de la bebida fermentada de soya.

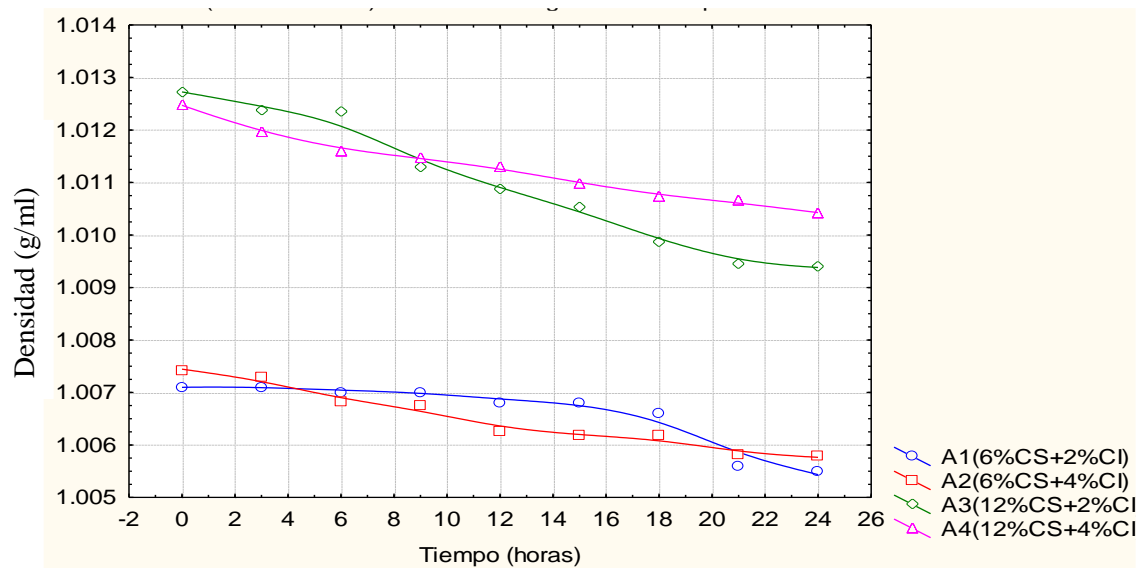


Figura 11. Densidades óptimas de *Saccharomyces boulardii* en bebidas probiótica de tarwi encubadas a 37°C por 24 horas

Nota: CS: concentración de sacarosa; CI: Concentración de Inóculo.

En la Figura 12 se muestra la disminución constante de la densidad conforme va pasando el tiempo de fermentación y los datos de la muestra varían dependiendo del% de sacarosa que lleva las preparaciones así como también nos muestra el ANOVA (Tabla 25) donde se observa que hay significancia

4.3.5 Monitoreo de la viscosidad durante el proceso fermentativo de las bebidas

En la Tabla 27 se muestra el ANOVA, donde se observa que hay significancia en cuanto a la relación de dos variables en estudio %Sacarosa y % inoculo lo cual mostraría la influencia en las dos variables.

Tabla 27.

Análisis de varianza Variable Viscosidad

ANOVA :Viscosidad					
R-sqr=.12871 ; Abj:.04702 ; MS: Residual=1037.826					
Factor	SS	Df	MS	F	P
(1)%Sacarosa	110.25	1	110.25	0.106232	0.746598
(2)%Inoculo	103.36	1	103.361	0.099594	0.754367
1 y 2	4692.25	1	4692.250	4.521228	0.041286
Error	33210.44	32	1037.826		
Total SS	38116.31	35			

En la siguiente Tabla 28 se observa los promedios obtenidos en cuanto a la viscosidad en las 4 diferentes muestras

Tabla 28.

Variación de la viscosidad durante el proceso fermentativo a 37°C

Tiempo(h)	Centipoise									
	A1(6%CS+2%CI)		A2(6%CS+4%CI)		A3(12%CS+2%CI)		A4(12%CS+4%CI)			
0	188	± 209	148	± 986	147	± 147	156	± 663		
3	179	± 199	126	± 569	151	± 130	151	± 599		
6	190	± 654	126	± 312	166	± 569	167	± 113		
9	189	± 158	138	± 493	158	± 163	164	± 130		
12	201	± 326	207	± 284	199	± 598	214	± 161		
15	205	± 604	210	± 172	203	± 235	242	± 654		
18	200	± 119	201	± 126	201	± 235	226	± 434		
21	221	± 457	208	± 452	202	± 113	245	± 172		
24	236	± 216	209	± 113	208	± 105	245	± 113		

Nota: CS: concentración de sacarosa; CI: Concentración de Inóculo.

La siguiente Figura 13. Se presenta para ilustrar el comportamiento reológico presentado por las bebidas de tarwi a lo largo del proceso fermentativo

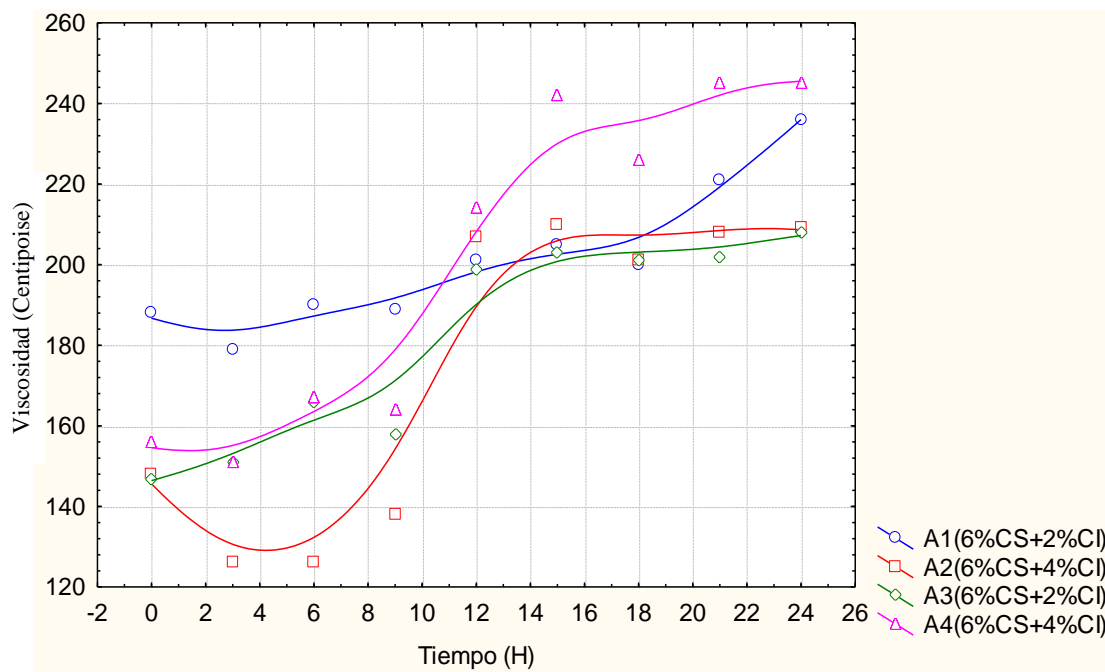


Figura 12. Comportamiento reológico durante la fermentación de bebidas probiótica de tarwi.

Nota: CS: concentración de sacarosa; CI: Concentración de Inóculo.

La Figura 13 se presenta para ilustrar el comportamiento reológico presentado por la bebida de tarwi a lo largo del proceso fermentativo para las concentraciones preparadas

Según el ANOVA muestra que hay significancia y los factores influyentes para que aumente la viscosidad son el % sacarosa y % de inóculo cuyo comportamiento es newtoniano, Benavides y Quicazan, (2009) elaboro una bebida fermentada de soya donde también evaluó el comportamiento reológico durante el tiempo de fermentación, donde menciona que su comportamiento de este fluido es newtoniano.

La Dirección general de promoción agraria (2005) menciona que el contenido de sólidos de la leche es relativamente alto es un líquido de viscosidad relativamente alta 2.0 poise que fluye libremente. Por otro lado (Castilla y otros, 2004) encontraron los siguientes resultados de viscosidad en yogurt tras la adición de diferente niveles de

pectina, es superior a nuestros resultados obtenidos en la evaluación de la viscosidad en leche por lo que *Saccharomyces boulardii*

4.4 Medida del nivel de aceptación mediante evaluación sensorial.

Los resultados obtenidos de la evaluación sensorial por parte de los jueces semi-entrenados se muestran en la siguiente Figura 15 del cual el valor más elevado de las calificaciones indica mayor preferencia por el producto.

El análisis del ANOVA del anexo 13 se mostró diferencias estadísticas significativas en cuanto sabor textura y apariencia general observándose la influencia del % inóculo, más en cuanto al color y color no se observó significancia.

En la Tabla 29 se presentan los promedios medios de cada atributo evaluado por el panel sensorial

Tabla 29.

Resultados obtenidas de la ficha de evaluación sensorial de bebida probiótica de tarwi en los atributos

Formulaciones	Atributos									
	Sabor		Olor		Color		Textura		Apariencia General	
A1(6%CS+2%CI)	5.131	±1.012	5.675	± 1.434	5.838	±0.926	5.088	± 1.118	5.856	±1.201
A2(6%CS+4%CI)	6.819	±0.972	5.631	± 0.731	6.106	±1.078	6.438	± 0.964	6.800	± 1.192
A3(12%CS+2%CI)	5.656	± 1.728	5.350	± 1.309	5.969	±1.244	5.956	± 1.523	6.306	± 1.525
A4(12%CS+4%CI)	6.313	± 1.784	5.763	± 1.543	6.125	±0.945	6.581	± 1.187	6.650	± 1.212

Nota: CS: concentración de sacarosa ; CI: Concentración de Inóculo.

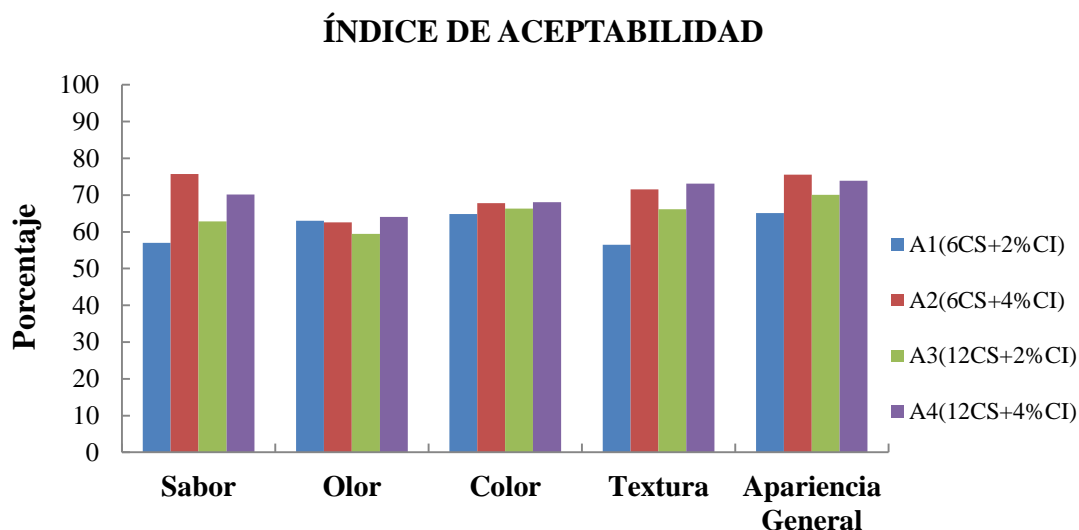


Figura 13. Evaluación Sensorial

Nota: CS: concentración de sacarosa ; CI: Concentración de Inóculo.

Calculando el índice de aceptabilidad los atributos sensoriales como sabor, textura, apariencia general presentaron significancia y que cuya escala hedónica esta representada por un puntaje de 7 (Me gusta moderadamente) mientras que el, color, olor, no presentaron significancia según el análisis de varianza de varianza (ANOVA), con un nivel de significancia de $p < 0.05$, sin embargo los promedios generales reportan una mayor referencia de puntaje en la muestra A2 el cual obtendría la mayor aceptabilidad por los catadores. Esto indica que los catadores no detectaron las diferencias. Según (Teixera y otros 1987) para los atributos evaluados un producto se considera aceptable cuando las formulaciones presentan un índice de aceptabilidad d del 70% de igualdad o superior.

4.5 Caracterización fisicoquímica y composición proximal. al producto final.

La formulación de bebidas probiótica de tarwi que obtuvo el mayor punto de calificación en la evaluación sensorial fue utilizada para la caracterización físico química como es el caso de la muestra A2 (6%Cs+4%CI) ver Tabla 30.

Tabla 30

Análisis proximal de la bebida probiótica de tarwi (L.mutabilis) empleando Saccharomyces Boulardii

PARÁMETROS	UNID.	RESULTADOS MUESTRA
Potencial de Hidrógeno	pH	5.4
Porcentaje de Materia Seca	%	8.11
Porcentaje de Humedad	%	91.99
Porcentaje de Proteína	%	44.05
Porcentaje de Grasas	%	15.32
Porcentaje de Cenizas	%	3.5
Acidez como Ácido Láctico	%	0.26
Porcentaje Alcohólico	%	0.98
Porcentaje de Sólidos Totales	%	8.11
Densidad	g/ml	1.025

Nota: Resultados expresados en base seca

Las bebida probiótica de tarwi presenta un pH 5.40, % materia seca 8.11, %humedad 91.99, % proteína 44.05, % grasas 15.32, % cenizas3.50, % acidez 0.26, % alcohólico 0.98. %solidos totales 8.11, densidad 1.025g/ml .como se muestras

Según los análisis realizados por (Castañeda y otros, 2008) en el yogur elaborado en donde realizaron 2 mezclas de diferentes concentraciones YSPT1; 70 % leche en polvo + 30 % de leche de tarwi), (YSPT2; 80 % de leche en polvo + 20 % leche de tarwi) llegando a las conclusiones El contenido de sólidos totales presenta entre 12 a 14 %. El contenido en proteínas fue de 3,86 y 3,93%, grasa 2,88 y 3%, carbohidratos 14,04 y 14,13% con un aporte energético de 97,57 y 99,33 kcal, así como también él % de ácido láctico presentan 0.39 y 0.41 % de acidez respectivamente.

(Pereira y otros, 2009) en su trabajo de investigación denominado “Elaboración de una bebida probiótica fermentada a partir de extracto hidrosoluble de soya con frutas” presento los % de valores de la caracterización físico química de su producto probiótico. La bebida elaborada en este trabajo obtenida a partir del extracto acuoso de tarwi y la utilización de cultivos probióticos son clasificadas como productos “fermentados según

la norma Codex, (2010) ya que no existe normas técnicas peruanas especificadas sobre bebidas probiótica es por eso que tuvimos que basarnos en normas internaciones

Las bacterias acido lácticas por ejemplo tienen la característica de producir ácidos que incrementan eventualmente la concentración de pH en el medio

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

Luego de haber concluido con la investigación “Determinar los parámetros para la elaboración de bebida probiótica de tarwi (*lupinus mutabilis* Sweet) empleando *Saccharomyces boulardii*” durante el desarrollo de la presente investigación, permitió demostrar que si es posible la elaboración de bebida probiótica de tarwi empleando *Saccharomyces boulardii*, concluyendo que los parámetros para la elaboración de bebida probiótica de tarwi tomados de acuerdo a la aceptabilidad sensorial cual está compuesta compuesto por la muestra A2(6% concentración de sacarosa y 4% concentración de inóculo), el cual debe ser inoculado a temperatura de 37°C y cuyo extracto acuoso debe ser preparada en una relación de 1:2(tarwi-agua), además la producción de la bebida probiótica de tarwi (*Lupinus mutabilis* Swet) presentaría un potencial nuevo en el mercado como un grupo de productos no lácteos. Así como también se Llegó a las siguientes conclusiones:

- 1) Se obtuvo el extracto acuoso de tarwi en una relación de 1:2(tarwi-agua) cuyos resultados de los parámetros evaluados poseen un promedio de sólidos totales 3.3°brix, pH 6.19, densidad 1.015g/ml y viscosidad 5.4 Cp. Así como también este extracto posee un color blanco cremoso semejante a la leche de vaca, el cual este extracto se consideraría análogo de leche de tarwi.
- 2) La evaluación del crecimiento cinético de *Saccharomyces Boulardii* en la fase logarítmica en las bebidas de tarwi donde los cuatro sustratos preparados de acuerdo al diseño factorial 2² no presentaron diferencia significativa según el Análisis de varianza (ANOVA), el crecimiento cinético alcanzaron valores de 10⁶10⁷ Ufc/ml

según Puente y Cortes, (2009) que para que un producto se denomine probiótico debe contener valores mínimos de viabilidad de 10^6 Ufc/g

- 3) Al medir el nivel de aceptación de bebidas probióticas de tarwi mediante la evaluación sensorial se concluye que la formulación A2 (6%CS+4%CI) que está compuesto 6% de sacarosa y 4% de cultivo fue quien obtuvo un porcentaje mayor del 70% de entre las muestras. El cual indicaría que es un producto aceptable ya que alcanzó el índice de aceptabilidad. Además cabe mencionar que los resultados obtenidos en este estudio demostraron ser posible mejorar la calidad sensorial mediante la fermentación láctica como también de la adicción del saborizante.
- 4) Las propiedades fisicoquímica y composición proximal del producto final de la bebida probiótica de tarwi empleando *Saccharomyces boulardii*, presentada por la mejor combinación preparada fueron pH 5.40, % materia seca 8.11, %humedad 91.99, % proteína 44.05, % grasas 15.32, % cenizas3.50, % acidez 0.26, % alcohólico 0.98. %solidos totales 8.11, densidad 1.025g/ml.

5.2 Recomendaciones

El desarrollo de la presente investigación permite sugerir las siguientes recomendaciones:

- Realizar el conteo microbiano en placas Petri método indirecto para tener datos más precisos.
- Realizar un estudio de vida útil en la bebida probiótica de tarwi.
- Realizar trabajos con diferentes cultivos probióticos de genero *bifidum*, *lactobacillus* en bebida de tarwi
- Elaborar bebidas probióticas de cultivos andinos empleando *Saccharomyces boulardii* , *B. animalis* y *L. acidophilus*

Referencias bibliográfica

- Andino R, F., y Castillo, Y. (2010). Microbiología de alimentos: Un enfoque práctico para la inocuidad alimentaria.
- Amores, R., Calvo, A., Vera, J. R. M., y Martínez-Hernández, D. (2004). Probióticos. *Revista Española de Quimioterapia*, 17(2), 131-139.
- Ayala, G. (2004). Aporte de los cultivos andinos a la nutrición humana. Raíces Andinas: Contribuciones al conocimiento ya la capacitación. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú. p, 101-112.
- Biloo, A. G., Memon, M. A., Khaskheli, S. A., Murtaza, G., Iqbal, K., Saeed Shekhani, M., & Iddiqi, A. Q. (2006). Role of a probiotic (*Saccharomyces boulardii*) in management and prevention diarrhoea. *World Journal of Gastrology*, 12(28), 4557-4560
- Beléndez Vázquez, A., Bernabeu Pastor, J. G., Vera Guarinos, J., Pastor Antón, C., & Martín García, A. (1989). Prácticas de Física: Viscosidad. Viscosímetro de Ostwald. *Fundamentos Físicos*.
- Buts, J. (2005). Ejemplo de un medicamento probiótico: *Saccharomyces boulardii* liofilizada. *Revista Gastroenterol .Peru* 2005; 25: 176-188
- Buitrago Estrada, J., & Escobar Romero, A. M. (2009). Aplicación de levadura cándida spp como una alternativa viable para la retardación en la pudrición del banano (*musaacuminata*). Recuperado en <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis211.pdf>
- Coutinho C, J. (2009). Elaboração De Bebida Probiótica A Partir Do Suco De Laranja Fermentado com *Lactobacillus casei*. Universidade Federal do Ceará Centro de Ciências Agrárias, Departamento De Tecnologia De Alimentos Mestrado em Ciência E Tecnologia de Alimentos.
- Castañeda, B. C., M, R. M., Castillo, F. G., Jáuregui, A. M., E, F. R., Caparó, F. L., & H, J. M. (2008). Probiótico elaborado en base a las semillas de *Lupinus mutabilis* sweet (chocho o tarwi), 25(4), 210–215
- Coll C, F., Giannuzzi, L., Noia, M. A., & Zaritzky, N. (2001). El Modelado Matematico: Una Herramienta Util para la Industria Alimenticia. *Ciencia Veterinaria* ., 22–28
- Clase, I. V. Introducción al metabolismo y la energética bioquímica.

- Calderón A., J. O., A. Elías I. y M. Valdivie N. 2005. Dinámica de la Fermentación en Estado Sólido de las camas de Cascarilla de Café en Inicio de Ponedoras Inoculadas con Vitafert. Rev. Elect. Vet. 5:1-7
- Carrillo, C., Cavia, M. and Alonso-Torre, S.R. 2012. Antitumor effect of oleic acid; mechanisms of action. A review *Nutrición Hospitalaria* 27(5): 1860-1865. <http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v27n6/10revision09.pdf>
- Castañeda, B., Manrique,R., Gamarra, F., Muñoz,A.,Ramos, F., Lizaraso, F et al.2008.Probiótico elaborado en base a las semillas de *Lupinus mutabilis* Sweet (chocho or tarwi) sedes *Acta Medica Peruana* 25:210-215 <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=966254005>
- Czerucka, D.; Piche, T.e Rampal, P, (2007) Review article: yeast as probiotics – *Saccharomyces boulardii*. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, v.26, p.767–778.
- Codex. (2003). Codex Stan 243-2003: Codex standard for fermented milks. Rome
- Codex stan 243-2003. (2010). Norma del codex para leches fermentadas, 1–11.
- Castillo M, Borregales C y Sánchez M.D. 2004. Influencia de la Pectina sobre las propiedades reológicas del yogur. *Revista de la Facultad de Farmacia*. 46 (2): 33-37 p.
- Díaz-Plascencia, D., Rodríguez-Muela, C., Mancillas-Flores, P., Angulo, C., Salvador, F., Ruíz, O., & Elías, A. (2011). Desarrollo de un inóculo con diferentes sustratos mediante fermentación sólida sumergida. *REDVET. Revista electrónica de Veterinaria*, 1695, 7504.
- Dirección general de Promoción Agraria. 2005. Aspectos nutricionales y Tecnológicos de la leche. 60 p. Disponible en pdf: http://vaca.agro.uncor.edu/~pleche/material/Material%20II/A%20archivos%20internet/Biologia%20y%20fisiologia%20de%20la%20lactacion/agroin_doc2.pdf
- Elias Gomez Catunta. (2013). La Producción de Tarwi en la Economía Campesina de la Provincia Camacho. Universidad Mayor de San Andrés
- Ertor, O. (2003). *Saccharomyces boulardii*: infeksiyöz ishal tedavisinde yeni bir seçenek *mí Klimik Dergisi*, 16, 3-7
- Espinoza Ordoñez, V. A. (2015). Utilización del jugo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) como medio de cultivo para la producción de *Saccharomyces boulardii* L., Machala 2014.

- Federal, U., & Gerais, D. E. M. (2011). Ação probiótica da levedura *Saccharomyces boulardii* Silvia Helena Sousa Pietra Pedroso Silvia Helena Sousa Pietra Pedroso. Universidad Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciencias Biologicas.
- Fajardo, E., & Sarmiento, S. (2007). *Evaluación de melaza de caña de azúcar como sustrato para la producción de Saccharomyces cerevisiae*. Pontificio Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias
- Granato, D., Branco, G. F., & Cruz, A. G. (2010). Probiotic Dairy Products as Functional Foods, 9(Ada 2009), 455–470. <http://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00120.x>
- Gonzales,S.Joanna,M.(2011) "Elaboración y evaluación nutricional de un bebida proteica a base de lactosuero y chocho (*lupinus mutabilis*) como suplemento alimenticio"(tesis presentado para la obtención de título bioquímica farmaceutico) Escuela superior politécnica de Chimborazo. Facultad de ciencias. Riobamba-Ecuador.
- Garza S.1996. Caracterización reológica y microbiológica, y cinéticas de deterioro en cremogenado de melocotón. Universitat de Lleida. 168 p. ISBN: 84-89727-64-3. Disponible en pdf: www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/8368/sgarza.pdf
- Guevara, A; Malaga,R; 2013. Determinación de los parámetros de proceso y caracterización del pure de aguaymanto. Universidad de Lima Peru
- Gabriela y Renteria (2010) "desarrollo de un producto alimenticio: crema de chocolate utilizando aceite de palma en industrial DANEC.
- Ha, E. and Zemel, M.B. 2003. Functional properties of whey, whey components, and essential amino acids: mechanism underlying health benefits for active people (review). *Journal of Nutritional Biochemistry* 14: 251-258. <https://www.deepdyve.com/lp/elsevier/functional-properties-of-whey-whey-components-and-essential-amino-TttnEz1uut>
- INDECOPI. (2003). Norma Técnica Peruana 202.001 1013, (Lima 41), 13
- Jacobsen, S. E., & Mujica, A. (2006). El tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet.) y sus parientes silvestres. *Botánica Económica de los andes centrales*, 28, 458-482.
- López, M., & Estibaliz, M. (2008). Estimación de la incidencia de las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) en Colombia en la década 1996-2006 (Doctoral dissertation, Tesis de pregrado en microbiología industrial. Colombia: Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Bogotá DC, 2008. 148 p.
- Loja Illescas, N. G., & Orellana Romero, S. M. (2012). Propuesta gastronómica de aplicación innovadora del chocho
- LiriaD, M, (2007). Guia para la evaluación sensorial de alimentos. Lima. Peru. Inédita

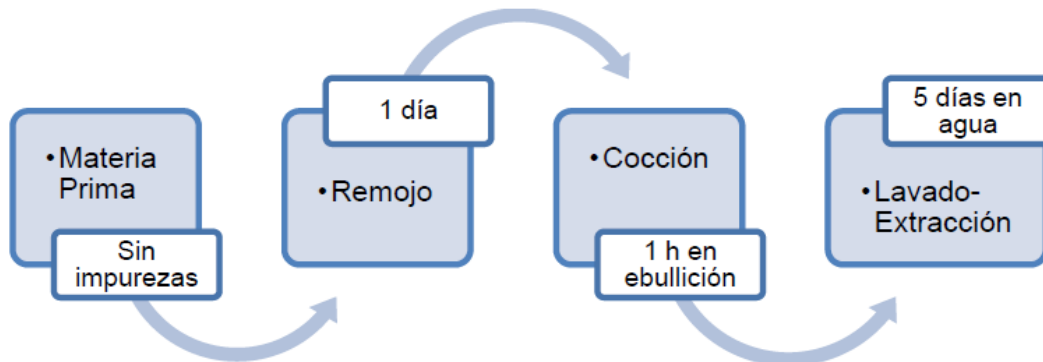
- McFarland, Lynne V, (2009) Unraveling the causes of negative studies: a case of *S. boulardii* for the prevention of antibiotic-associated diarrhea. *Revista Médica de Chile*. Santiago, Chile.
- Marquina, D., & Santos, A. (2001). Probióticos, prebióticos y salud. *Actualidad SEM*, 32, 24-27.
- Martins, S., Barbosa B, F. H., & Robert, J. (2009). O probiótico *Saccharomyces boulardii*. *Revista de Biologia E Ciências Da Terra*, 13
- Mosquera, M. D., Cumbal, L. H., & Moreira, P. (2008). *Obtención de Etanol Anhidro a Partir de Materiales Feculentos de Producción Nacional: Maíz (Zea mays) y Yuca (Manihot esculenta crantz)* (Doctoral dissertation, Tesis. Ingeniería Biotecnología. Sangolquí-Ecuador. Facultad de Biotecnología de la Escuela Politécnica del Ejército. 10-15P).
- Mattila-Sandholm, T., Myllärinen, P., Crittenden, R., Mogensen, G., Fondén, R., & Saarela, M. (2002). Technological challenges for future probiotic foods. *International Dairy Journal*, 12(2), 173-182
- Pietra S. 2011. Ação probiótica da levadura *Saccharomyces boulardii*. (Monografía apresentada como requisito parcial para obtenção do título de especialista em Microbiologia aplicada às ciencias). Orientador: Prof. Flaviano dos Santos Martins. Departamento de Microbiologia, Universidad de Federal de Minas Gerais. 101 p. Recuperado en.pdf: <http://microbiologia.icb.ufmg.br/monografias/286.PDF>
- Pardo, S., Galvagno, M. Á., & Cerrutti, P. (2009). Estudios de la viabilidad y la vitalidad frente al congelado de la levadura probiótica *Saccharomyces boulardii*: efecto del precondicionamiento fisiológico. *Revista Iberoamericana de Micología*, 26(2), 155-160.
- Peryam, D.R.; Pilgrim, P.J. (1957) hedonic scale method for measuring food preferences. *Food Technolgy*, v11, N, 9, 9-14.
- Pereira, M. O., Bampi, M., Roberto, O., Santa, D., Stutz, H., & Santa, D. (2009). Elaboração de uma bebida probiótica fermentada a partir de extrato hidrossolúvel de soja com sabor de frutas The making of a probiotical fermented drink from soybean water, 475–487
- Puente, D., Betoret, V., & Cortés, R. (2009). Evolución del cultivo probiótico y el color de manzanas impregnadas con bacteria ácido lácticas. *Vitae (Medellín)*, 16(3), 297-303.
- Quicazán, M. C., Bahamondes, P. A. S., & Arenas, G. L. P. (2001). Evaluación de la fermentación de bebida de soya con un cultivo láctico. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 3(2), 92-99.

- Quintero, H., Marval, M. R., Páez, G., Ferrer, J., Mármol, Z., & Rincón, M. (2001). Producción continua de proteína microbiana (*K. fragilis*) a partir de suero de leche. *Revista Científica*, 11(2).
- Rao, N., Neelapu, R., Reineke, A., Maheswara, U., Chanchala, R., Koduru, U. D, Phillips, L. (2009). Estudios de la viabilidad y la vitalidad frente al congelado de la levadura probiótica *Saccharomyces boulardii*: efecto del preacondicionamiento fisiológico. *Revista Iberoamericana de Micología*, 26(2), 155–16
- Rodríguez-Bernal, J. M., Serna-Jiménez, J. A., Uribe-Bohórquez, M. A., Klotz, B., & Quintanilla-Carvajal, M. X. (2014). Aplicación de la metodología de superficie de respuesta para evaluar el efecto de la concentración de azúcar y de cultivos iniciadores comerciales sobre la cinética de fermentación del yogurt. *Revista mexicana de ingeniería química*, 13(1), 213-225.
- Ruiz, M. A.; Sotelo, A (2001). Chemical composition, nutritive value, and toxicology evaluation of Mexican Wild Lupinus. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 5336-5339.
- Rendueles, M., & Díaz, M. (2014). *Biotecnología industrial*. Arbor, 190(768), a155.
- Sousa Prietra S (2011). "Ação probiotica da levadura *saccharomyces boulardii* " (curso de especialização em microbiologia).Universidad Federal de Minas Gerais. Instituto de ciencias Biológicas Belo Horizonte Brazil
- Schoeneberger, H., Gross, R., Cremer, H. and Elmadfa, I. 1982. Composition and protein quality of *Lupinus mutabilis*. *Journals of Nutrition* 112: 70-76. <http://jn.nutrition.org/content/112/1/70.full.pdf+htm>
- Segovia, G., Rubio, A., Egas, L., & Villacrés, E. (2006). Usos alternativos del chocho: Chocho (*Lupinus mutabilis* sweet) alimento andino redescubierto.
- Sandoval Godoy, S. A., & Camarena Gómez, D. M. (2011). Comportamiento alimentario y perfil de consumo de los sonorenses: el caso de las comidas internacionales. *Región y sociedad*, 23(50), 185-213.
- Teixeira, E.; Meinert, E.; Barbeta, P. A. *Análise sensorial dos alimentos*. Florianópolis: UFSC, 1987. 182 p.
- Uribe L, 2007. "Caracterización fisiológica de levaduras aisladas de la filosfera de mora" (presentado para optar el título de microbiología industrial) Pontificio Universidad Javerina facultad de ciencias básicas microbiología industrial. Bogotá.
- Villamil Y, Zapana Y. 1999 Características de las levaduras fermentadoras aisladas de frutos en la descomposición con potencial aplicación productora de etanol. Trabajo de grado (microbiología industrial) Pontificio Universidad Javeriana Bogota.

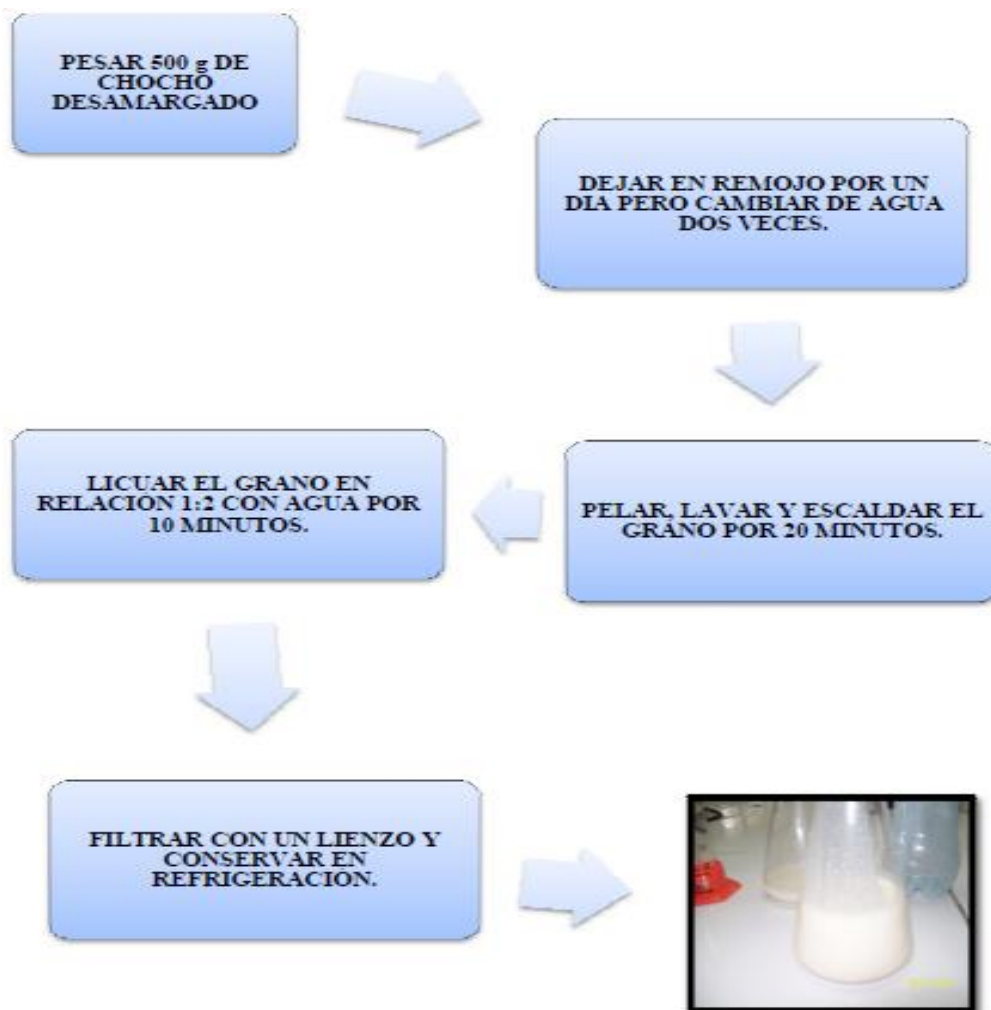
- Vicente y otros (1997) On Line estimation of biomass through pH control analysis in aerobic yeast fermentation systems ;biotechnology and bioengineering vol.58 N° 4 p 445-450.
- Villacres, E., Rubio, A., Egas, L., & Gabriela, S. (2006). Usos Alternativos del Chocho. Quito –Ecuador
- Yerlikaya, O. (2014). Starter cultures used in probiotic dairy product preparation and popular probiotic dairy drinks. Food Science and Technology (Campinas), 34(June), 221–229. <http://doi.org/10.1590/fst.2014.0050>
- Yarlaqué, R., & Del Carmen, M. (2014). Obtención de colorante a partir de la cáscara de berenjena Solanum melongena y su empleo en un producto láctico: yogurt
- Yegres, F., Fernández Zeppenfeldt, G., Padin, C., Rovero, L., & Richard Yegres, N. (2003). Saccharomyces cerevisiae en la fabricación del licor cocuy. *Rev. Soc. Venez. Microbiol*, 23(1), 51-54.
- (Díaz Plascencia, 2011)
- Witting, E. (2001). Evaluacion sensorial: una metodología para la tecnología de alimentos. Consultado en 07, 20, 09 en mazinger. Sisib. Uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_quimicas_y_farmaceuticas/wittinge01/index.html.
- Watts, B., Ylimaki, G., Jeffery, L., & Elías, L. G. (1992). *Metodos sensoriales basicos para la evaluacion de alimentos*.
- Zamora R , Martinez H , Montañez J.(2013) “Viabilidad de sacccharomyces boulardii bajo condiciones de acidez In vitro “(revista de ciencias biológicas y de la salud) Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo.Facultad de química farmacobiologica. Mexico.
- Zanello G, Meurens F, Berri M ,Samon H.”*saccharomyces Boulardii* effects on gastrointestinal diseases “ institut national de la Recherche agronomique. France. www.clmb.org
- Zajewska, H. (2012). An update on Saccharomyces boulardii. *Przegląd Gastroenterologiczny*, 7(6), 351-358

ANEXOS

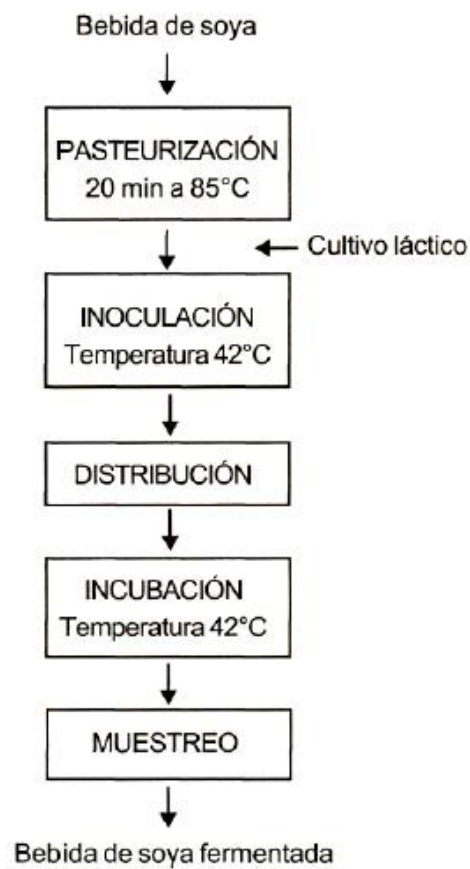
Anexo 1. Desamargado o deslupinizado de chocho



Anexo 2. Obtención del extracto acuoso de chocho o tarwi



Anexo 3 Proceso de fermentación de bebida de soya



Anexo 4. Determinación de pH AOAC 981.12 / 90

Procedimiento:

Calibrar el equipo con buffers fosfato de pH 4.0 y 7.0.

En un vaso de precipitado colocar un volumen aproximadamente a 25.0 ml de la muestra.

Introducir el electrodo del potenciómetro en la muestra y realizar la medición de pH.

Anexo 5. Determinación de acidez AOAC 947.05 / 90

Procedimiento

Para dicho análisis se utilizó un equipo de titulación que consiste en una bureta, un vaso de precipitado, un soporte universal y un anillo con su nuez. Se adicionan dos o tres gotas de fenolftaleína (o colorante) y se comienza a titular (dejar caer gota a gota del agente titulante sobre el titulado) hasta obtener un ligero vire a rosa (en el caso de la fenolftaleína) que dure 30 segundos cuando mínimo. Si es muy oscuro, la titulación ha fracasado. Se mide la cantidad de agente titulante gastado (o gasto de bureta) y se utiliza la normalidad de la sustancia.

Se emplea entonces la siguiente fórmula:

$$\%Acidez = \frac{V*N*meq*100}{M}$$

M

Donde:

V= Volumen del álcali gastado en la titulación de alícuota.

N= Normalidad de álcali.

meq = Valor del miliequivalente en gramos del ácido en el que se quiere expresar la acidez.

M = Gramos de muestra contenida en la alícuota

Anexo 6. Determinación de sólidos solubles AOAC 925.105 / 90.

Fundamento

Se basa en una refractométrica de la cual se obtiene el valor a una temperatura dada. Medición

El porcentaje de sacarosa se realiza mediante el uso de un aerómetro, el cual se introduce en una solución y la lectura se realiza por el menisco que forma.

Procedimiento • Sólidos solubles totales

- ✓ Limpiar el prisma del refractómetro con alcohol y agua destilada, utilizando algodón para evitar ralladuras.

- ✓ Verificar que la lectura sea cero colocando dos o tres gotas de agua destilada. – Llevar a 20 °C la muestra del fermento.
- ✓ Hacer la respectiva medición con dos o tres gotas de fermento dejándolas caer sobre el prisma.
- ✓ Observar la medición ajustando debidamente el refractómetro. • Porcentaje de sacarosa
- ✓ Tomar una muestra de 250 ml de fermento, llevarla a 20 °C y colocarlo en una
- ✓ Introducir el sacarómetro en la probeta, esperar a que se estabilice cuidando de que no se pegue en las paredes. Realizar la lectura.

Anexo 7. Determinación de grasa AOAC, 985.15, 1990

Fundamento

Una cantidad previamente homogeneizada y seca, medida o pesada del alimento se somete a una extracción con éter de petróleo o éter etílico, libre de peróxidos o mezcla de ambos. Posteriormente, se realiza la extracción total de la materia grasa libre por soxhlet.

Procedimiento

Preparación de la muestra: en muestras con mucha humedad homogeneizar y secar a 103+ °c en estufa de aire considerando el tipo de muestra. Moler y pasar por tamiz de malla de 1 mm. Pesar en duplicado 2 a 5 gramos de muestra preparada en el dedal de extracción o papel filtro previamente pesado y tapado con algodón desgrasado. Registrar m. secar el matraz de extracción por 30 min a 103+ 2°c. Pesar el matraz de extracción registrar m1. Poner el matraz de extracción en el sistema soxhlet el dedal en el tubo de extracción y adicionar el solvente al matraz. Extraer la muestra con el solvente por 6 a 8 horas a una velocidad de condensación de 3-6 gotas/seg. Una vez terminada la extracción eliminar el solvente por evaporación en rotavapor o baño María bajo campana. Hasta que no se detecte olor a éter. Secar el matraz con la grasa en estufa a 103+ 2°c por 10 min, enfriar en desecados y pesar. Registrar m2.

Calculo y expresión de resultados

$$\% \text{ grasa cruda} = ((m2 - m1) / m) \times 100$$

Dónde:

M peso de la muestra m1 tara del matraz solo m2 peso matraz con grasa

Anexo 8. Determinación de Cenizas 15th Edition A.O.A.C. 1990

Principio

El método se basa en la destrucción de la materia orgánica presente en la muestra por calcinación y determinación gravimétrica del residuo

Efectuar el análisis en duplicado. Pesar al 0.1 mg en una cápsula previamente calcinada y tarada (m0) 2 gramos de muestra homogeneizada (m1). Pre calcinar previamente la muestra en placa calefactora, evitando que se inflame, luego colocar en la mufla e incinerar a 550 °C por 8 horas, hasta cenizas blancas o grisáceas. Pre enfriar en la mufla apagada y si no se logran cenizas blancas o grisáceas, humedecerlas con agua destilada, secar en el baño de agua y someter nuevamente a incineración. Dejar enfriar en desecador y pesar (m2). Mezclar cuidadosamente y completamente la muestra con la arena, mediante la varilla de vidrio.

- Expresión de resultados

$$\% \text{ Cenizas totales} = \frac{(m2 - m0) \times 100}{(m1 - m0)}$$

Donde:

m2: masa en gramos de la cápsula con las cenizas

m1: masa en gramos de la cápsula con la muestra

m0: masa en gramos de la cápsula vacía

Anexo 9. Determinación de proteínas: Método Kjeldhal. 13th Edición A.O.A.C. 1984

Fundamento

El método se basa en la destrucción de la materia orgánica con ácido sulfúrico concentrado, formándose sulfato de amonio que en exceso de hidróxido de sodio libera amoníaco, el que se destila recibiendo en: a) ácido sulfúrico donde se forma sulfato de amonio y el exceso de ácido es valorado con hidróxido de sodio en presencia de rojo de

metilo, o b) ácido bórico formándose borato de amonio el que se valora con ácido clorhídrico.

Procedimiento

Realizar la muestra en duplicado. Efectuar un ensayo en blanco usando una sustancia orgánica sin nitrógeno (sacarosa) que sea capaz de provocar la reducción de los derivados nítricos y nitrosos eventualmente presentes en los reactivos. Pesar al 0.1 mg. alrededor de 1 g de muestra homogeneizada (m) en un matraz de digestión kjeldahl. Agregar 3 perlas de vidrio, 10 g de sulfato de potasio o sulfato de sodio, 0.5 g de sulfato cúprico y 20 ml de ácido sulfúrico. Conectar el matraz a la trampa de absorción que contiene 250 ml de hidróxido de sodio al 15 %. El disco poroso produce la división de los humos en finas burbujas con el fin de facilitar la absorción y para que tenga una duración prolongada debe ser limpiado con regularidad antes del uso. Los depósitos de sulfito sódico se eliminan con ácido clorhídrico. Cuando la solución de hidróxido de sodio al 15 % adicionada de fenolftaleína contenida en la trampa de absorción permanece incolora debe ser cambiada (aprox. 3 análisis). Calentar en manta calefactora y una vez que la solución esté transparente, dejar en ebullición 15 a 20 min. Más. Si la muestra tiende a formar espuma agregar ácido esteárico o gotas de silicona antiespumante y comenzar el calentamiento lentamente.

Enfriar y agregar 200 ml de agua. Conectar el matraz al aparato de destilación, agregar lentamente 100 ml de NAOH al 30 % por el embudo, y cerrar la llave. Destilar no menos de 150 ml en un matraz que lleve sumergido el extremo del refrigerante o tubo colector en: a) 50 ml de una solución de ácido sulfúrico 0.1 n, 4 a 5 gotas de rojo de metilo y 50 ml de agua destilada. Asegurar un exceso de H₂SO₄ para que se pueda realizar la retro titulación. Titular el exceso de ácido con NAOH 0.1 n hasta color amarillo o b) 50 ml de ácido bórico al 3 %. titular con ácido clorhídrico 0.1 n hasta ph 4.6 mediante un medidor de ph calibrado con soluciones tampón ph 4 y ph 7, o en presencia del indicador de tashiro hasta ph 4.6 cada cierto tiempo es necesario verificar la hermeticidad del equipo de destilación usando 10 ml de una solución de sulfato de amonio 0.1 n (6.6077 g/l), 100 ml de agua destilada y 1 a 2 gotas de hidróxido de sodio al 30 % para liberar el amoníaco, así como también verificar la recuperación destruyendo la materia orgánica de 0.25 g de l(-)-tirosina. El contenido teórico en nitrógeno de este producto es de 7.73 %. Deve recuperarse un 99.7 %

- **Cálculo y expresión de resultados**

$$\%N = \frac{14xNxVx100}{m x100}$$

$$\% = \text{proteína} = \frac{14xNxVx100x\text{factor}}{m x100}$$

Donde:

V: 50 ml H₂SO₄ 0.1 N - gasto NaOH 0.1 N o gasto de HCL 0.1 N

M: masa de la muestra, en gramos

Factor:

6.25: para carne, pescado, huevo, leguminosas y proteínas en general, 5.7: para cereales y derivados de soya, 6.38: leche, 5.55: gelatina 5.95: arroz

Anexo 10. Determinar la humedad método de la estufa de aire 15th Edición AOAC 925.10, 1990

Principio:

El método se basa en la determinación gravimétrica de la pérdida de masa, de la muestra desecada hasta masa constante en estufa de aire.

Procedimiento:

Efectuar el análisis en duplicado. Colocar la cápsula destapada y la tapa durante al menos 1 hora en la estufa a la temperatura de secado del producto. Empleando pinzas, trasladar la cápsula tapada al desecador y dejar enfriar durante 30 a 45 min. Pesar la cápsula con tapa con una aproximación de 0.1 mg. Registrar (m1). Pesar 5 g de muestra previamente homogeneizada registrar (m2). Colocar la muestra con cápsula destapada y la tapa en la estufa a la temperatura y tiempo recomendado 105 °C x 5 horas. Tapar la cápsula con la muestra, sacarla de la estufa, enfriar en desecador durante 30 a 45 min. Repetir el procedimiento de secado por una hora adicional, hasta que las variaciones entre dos pesadas sucesivas no excedan de 5 mg (m3).

Expresión de resultados

La humedad del producto expresada en porcentaje, es igual a:

$$\text{Humedad \%} = \frac{(M1 - m2) 100}{M3}$$

Donde:

m1: masa de la cápsula vacía y de su tapa, en gramos

Cálculo m2: masa de la cápsula tapada con la muestra antes del secado, en gramos

m3: masa de la cápsula con tapa más la muestra desecada, en gramos

Promediar los valores obtenidos y expresar el resultado con dos decimales

Anexo 11. Determinación del número de microorganismos por recuento en cámara de conteo neubauer improved.

Fundamento del método

Las cámaras de conteo se utilizan para determinar microscópicamente el número de microorganismos totales (vivos y muertos) en un determinado volumen de suspensión. Este método se emplea en muestras con concentraciones de microorganismos mayores o iguales 10⁶ m.o/ ml y que no contengan partículas que impidan determinar de manera precisa el número de microorganismos.

En las cámaras de conteo hay una retícula grabada sobre la superficie de una placa de vidrio, con cuadros de un área pequeña y conocida. Sobre cada cuadro hay un volumen de magnitud conocida, muy pequeña, pero medida con mucha precisión. Se debe contar la cantidad de células por unidad de área de la retícula, empleando el microscopio de contraste, obteniendo una medida del número de células por el pequeño volumen de la cámara. De aquí se determina fácilmente el número de células por mililitro de suspensión, multiplicándolo por un factor de dilución basado en el volumen de la cámara donde se colocó la muestra

La cámara de conteo Neubauer Improved es detallada a continuación. La profundidad de la cámara es de 0.1 mm. La cuadrícula de recuento muestra 9 cuadros grandes, cada uno de 1 mm². Los 4 cuadros grandes de las esquinas están divididos en 16 cuadros con aristas de 0.25 mm. Se utilizan para recuento de leucocitos. El cuadrado grande central está dividido en 25 cuadrados medianos con aristas de 0.2 mm y cada

cuadrado mediano esta subdividido en 16 cuadrados pequeños con aristas de 0.05 mm y una superficie de 0.0025 mm². Todos los cuadrados medianos tienen líneas de límite triple. La línea central es la frontera y decide si las células de esta zona se deben contar o no

Procedimiento – Tomar por triplicado muestras de fermento de manera homogénea de 1 ml y diluir a 1×10^{-1} en un tubo de ensayo (9ml de agua destilada y 1 ml del medio fermentado)

- Adicionar dos gotas de solución de formaldehído al 40%.
- Agitar y tomar una o dos gotas de la suspensión homogénea, colocándola sobre la cámara Neubauer Improved. Cubrir con un cubreobjetos el área de las celdas.
- Colocar la cámara de conteo en el microscopio y enfocar con el lente de 40X, ajustando el debido contraste.
- Situarse en el cuadro grande central de los 9 cuadrados existentes de la cámara.

Cálculos y expresión de los resultados

Realizar los cálculos correspondientes según la siguiente fórmula estadística: $NMO = P / (SC \times Pf \times Fd)$

• NMO = Número de microorganismos por microlitro (μ l). Si el resultado se requiere expresar por ml, se debe multiplicar por 1000 el resultado obtenido.

• P = Número de partículas contadas. Corresponde al promedio de 5 cuadros. • SC = Superficie contada que corresponde a 0.04 mm². • Pf = Profundidad de la cámara que corresponde a 0.1 mm. • Fd = Factor de dilución utilizado

Anexo 12. Método para la determinación del contenido alcohólico de etanol por el método de destilación simple

Fundamento del método

La muestra se somete a destilación simple en condiciones específicas y en el destilado se determinan los grados alcoholimétricos (porcentaje de etanol en volumen), utilizando un alcoholímetro.

• Destilación

- ✓ En un balón aforado de 250 ml adicionar la muestra y llenar hasta la marca. – Instalar el aparato de destilación.
- ✓ En el balón de destilación verter la muestra, a continuación lavar el balón que contenía la muestra con agua destilada, llenándolo hasta las tres cuartas partes del mismo. Adicionar el agua de lavado al balón de destilación.
- ✓ Agregar perlas de vidrio para regular la ebullición. Comenzar la destilación con un calentamiento regulado y continuo.
- ✓ Dejar en reposo el alcoholímetro hasta que se estabilice realizando la lectura por el menisco inferior del alcoholímetro

Anexo 13 Determinación de la Viscosidad para fluidos newtonianos

Procedimiento

- Con una pipeta introduzca alcohol en la ampolla A hasta más de la mitad de la misma.
- Insufle aire de modo que el líquido llene el volumen V quedando un poco más arriba del enrase a.
- Deje escurrir el líquido poniendo en marcha el cronómetro en el momento en que la superficie del líquido pasa por a y deteniéndolo en el momento que pasa por b.
- Realice al menos 10 determinaciones del tiempo que tarda el líquido en escurrir desde a hasta **b**.

- Vacíe el viscosímetro y séquelo.
- Después de que el viscosímetro se halla secado y alcance nuevamente la temperatura ambiente repita el procedimiento con agua destilada y determine la viscosidad relativa del líquido respecto del agua.
- Recuerde que si realiza varias medidas la dispersión de las mismas debe tenerse en cuenta en la estimación del intervalo de incertidumbre.

2. Determinación de la viscosidad absoluta del agua a una temperatura dada respecto a la Ambiente.

3. Determine la temperatura ambiente, y repita la medición con agua a otra temperatura Diferente. (Belendez, 1989)

$$\eta_x = \eta_{\text{agua}} \frac{\rho_x \cdot t_x}{\rho_{\text{agua}} \cdot t_{\text{agua}}}$$

Anexo 14. Densidad relativa

Datos

- Masa del picnómetro con la sustancia (m_{ps})
- Masa del agua (m_w)
- Masa de la sustancia (m_s)

$$m_w = m_{pw} - m_p$$

Anexo 15. Ficha de Evaluación Sensorial

PRUEBA DE MEDICIÓN DEL GRADO DE SATISFACCIÓN

Nombre: _____ Fecha _____

Producto: _____

Evalué las muestras de bebida que se le presente a continuación y marque la intensidad percibida de cada atributo en línea correspondiente de rango 1 al 9. Marque con una línea vertical (I) o una (x)

Escala	Puntaje
Me gusta muchísimo	9
Me gusta mucho	8
Me gusta moderadamente	7
Me gusta poco	6
No me gusta, ni me disgusta	5
Me disgusta poco	4
Me disgusta moderadamente	3
Me disgusta mucho	2
Me disgusta muchísimo	1

Atributos

Olor

Color

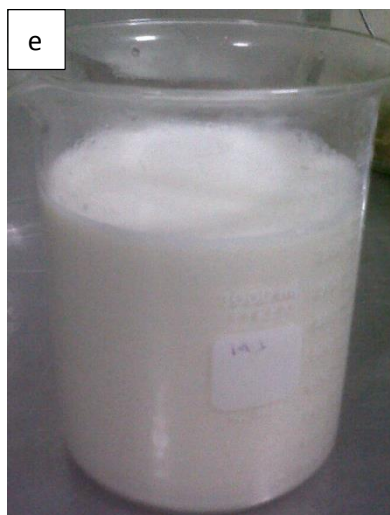
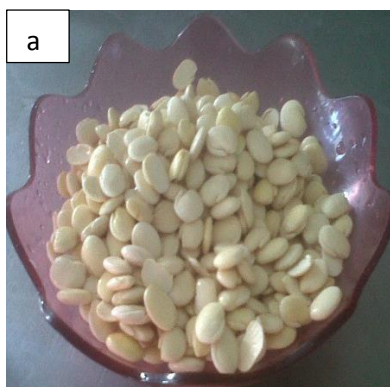
Sabor

Textura

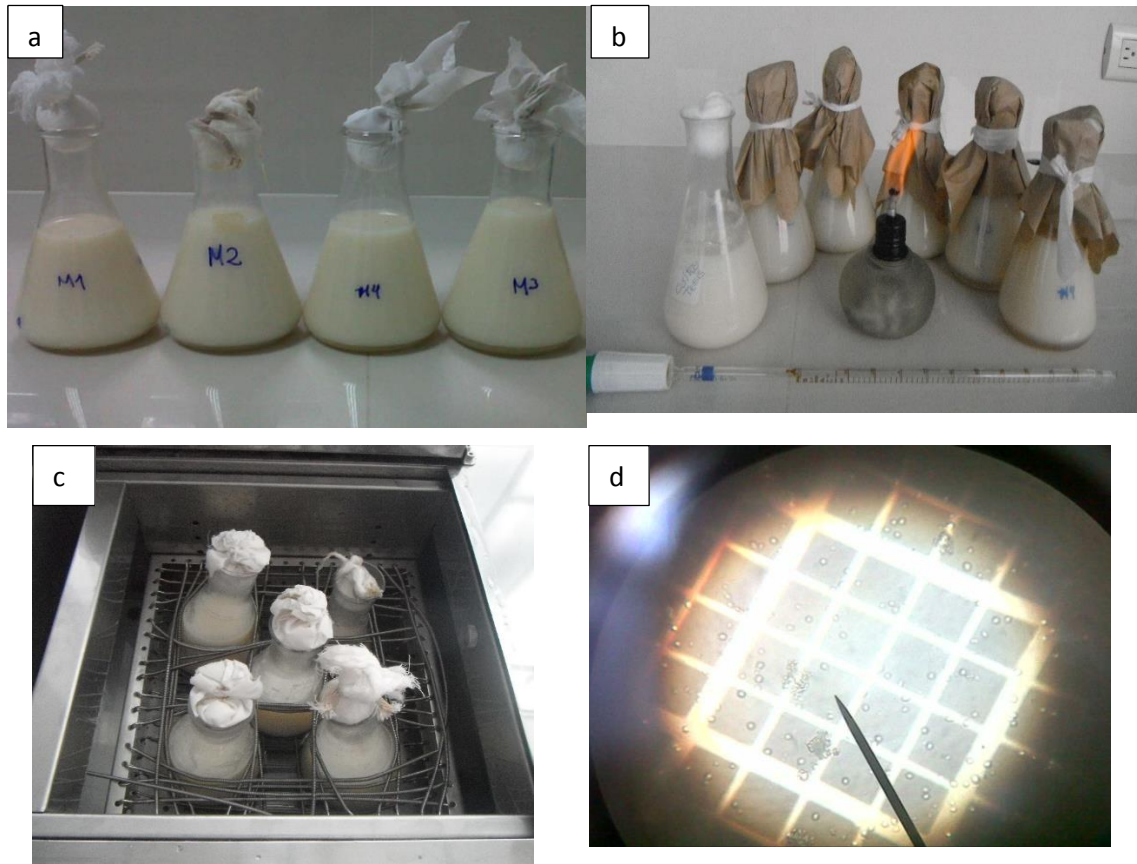
Apariencia General

Comentarios:

Muchas gracias

Anexo 16.Fotos*Fotos 1. Proceso para la obtención de la leche de de tarwi*

Nota. a) Tarwi Descascarado b) Licuado del grano c) filtrado de leche de tarwi d) Pasteurización
d) Leche de tarwi



Fotos 2. Proceso para la evolución del crecimiento Microbiano

Nota. a) Muestra de análisis para la evaluación de crecimiento cinético b) Siembra del inóculo (*Saccharomyces boulardii*) c) Fermentación de la bebida en baño maría d) vista en aumento 40%



Anexo 17 Anovas del análisis sensorial

Anova Variable Sabor							A
R-sqr=.13029; Adj:.0837; MS Residual = 2.034762							
Factor	SS	df	MS	F	p		
(1)% Sacarosa	0.6202	1	0.620170	0.304787	0.583094		
(2)%Inoculo	15.3015	1	15.3015	7.520044	0.008178		
1 by 2	1.1482	1	1.14817	0.564276	0.455688		
Error	113.9467	56	2.03476				
Total SS	131.0165	59					

Anova Variable Color							B
R-sqr=.01487; Adj:. 17745 ;MS Residual=1.114071							
Factor	SS	df	MS	F	p		
(1)% Sacarosa	0.08817	1	0.088167	0.079139	0.779504		
(2)%Inoculo	0.7935	1	0.7935	0.079139	0.402288		
1 by 2	0.06017	1	0.060167	0.712252	0.817081		
Error	62.388	56	1.114071	0.054006			
Total SS	63.32983	59					

Anova Variable Textura							C
R-sqr=.21928; Adj:. 17745 ;MS Residual=1.476952							
Factor	SS	df	MS	F	p		
(1)% Sacarosa	4.2667	1	4.26667	2.88883	0.094744		
(2)%Inoculo	16.6427	1	16.64267	11.26825	0.001422		
1 by 2	2.3207	1	2.32067	1.57125	0.215233		
Error	82.7093	56	1.47695				
Total SS	105.9393	59					

Anova Variable Olor							D
R-sqr=.01705; Adj:0 ;MS Residual=1.671262							
Factor	SS	df	MS	F	P		
(1)% Sacarosa	0.15	1	0.15	0.089753	0.765601		
(2)%Inoculo	0.56067	1	0.560667	0.335475	0.564776		
1 by 2	0.91267	1	0.912667	0.546094	0.463004		
Error	93.59067	56	1.671262				
Total SS	95.214	59					

Anova Variable Apariencia General							E
R-sqr=.08774 ; MS Residual=1.6643821							
Factor	SS	df	MS	F	p		
(1)% Sacarosa	0.5802	1	0.580167	0.348578	0.557294		
(2)%Inoculo	7.0042	1	7.0041167	4.208271	0.044916		
1 by 2	1.3802	1	1.380167	0.829237	0.366396		
Error	93.2053	56	1.664381				
Total SS	102.198	59					