

**UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ MARÍA  
ARGUEDAS  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA  
AGROINDUSTRIAL**



Presentado por:

**Br. DEISY STEPHANY RODAS HUAMÁN**

**EFFECTO DEL PORCENTAJE DE GRÁNULOS DE  
KÉFIR Y TEMPERATURA DE INCUBACIÓN EN LA  
ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA FUNCIONAL**

Asesor:

**Ing. Mg. TAIPE PARDO, FREDY**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**ANDAHUAYLAS – APURÍMAC – PERÚ**

**2019**



## APROBACION DEL ASESOR

Quién suscribe: Ing. Mg. Fredy Taipe Pardo por la presente:

### **CERTIFICA,**

Que, la Bachiller en Ingeniería Agroindustrial **DEISY STEPHANY RODAS HUAMÁN** ha culminado satisfactoriamente el informe final de tesis intitulado: **"EFECTO DEL PORCENTAJE DE GRÁNULOS DE KÉFIR Y TEMPERATURA DE INCUBACIÓN EN LA ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA FUNCIONAL"** para optar el Título Profesional de **INGENIERA AGROINDUSTRIAL**.

Andahuaylas, 20 de noviembre de 2019

---

Ing. Mg. Fredy Taipe Pardo  
**Asesor**

---

Br. Deisy Stephany Rodas Huamán  
**Tesista**



## DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD

Yo **Deisy Stephany Rodas Huamán** identificado (a) con **DNI N° 74984671** de la **Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial**, declaro bajo juramento que el Proyecto Titulado: **"EFECTO DEL PORCENTAJE DE GRÁNULOS DE KÉFIR Y TEMPERATURA DE INCUBACIÓN EN LA ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA FUNCIONAL"**. Es auténtico y no vulnera los derechos de autor. Además, su contenido es de entera responsabilidad del autor del proyecto, quedando la UNAJMA exenta de toda responsabilidad en caso de atentar contra la Ley de propiedad intelectual y derechos de autor.

Andahuaylas, 20 de noviembre de 2019

Firma

N° DNI: 74984671

E-mail: dsrodas11@gmail.com

N° Celular: 972483082



FACULTAD DE INGENIERIA

ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS

En la Av. 28 de julio N° 1103 del Local Académico SL02 (Santa Rosa) en el Salón de Grados de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional José María Arguedas ubicado en el distrito de Talavera de la Reyna de la Provincia de Andahuaylas, siendo las 11:00 horas del día 14 de noviembre del año 2019, se reunieron los docentes: Mg. Denis Hernán Gutiérrez Martínez, MSc. Carlos Alberto Ligarda Samanez, MSc. Abel Isaías Barrial Lujan, en condición de integrantes del Jurado Evaluador del Informe Final de Tesis intitulado: "EFECTO DEL PORCENTAJE DE GRÁNULOS DE KÉFIR Y TEMPERATURA DE INCUBACIÓN EN LA ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA FUNCIONAL", cuyo autor es el Bachiller en Ingeniería Agroindustrial DEISY STEPHANY RODAS HUAMÁN, el asesor Ing. Fredy Talpe Pardo, con el propósito de proceder a la sustentación y defensa de dicha tesis.

Luego de la sustentación y defensa de la tesis, el Jurado Evaluador ACORDÓ: APROBAR por UNANIMIDAD al Bachiller en Ingeniería Agroindustrial DEISY STEPHANY RODAS HUAMÁN, obteniendo la siguiente calificación y mención:

Table with 3 columns: Nota escala vigesimal (Numeros, Letras), and Mención. Values: 17, DEISIETE, MUY BUENO

En señal de conformidad, se procedió a la firma de la presente acta en 03 ejemplares.

Signature of Mg. Denis Hernán Gutiérrez Martínez, Presidente del Jurado Evaluador

Signature of MSc. Carlos Alberto Ligarda Samanez, Primer Miembro del Jurado Evaluador

Signature of MSc. Abel Isaías Barrial Lujan, Segundo Miembro del Jurado Evaluador



## APROBACIÓN DEL JURADO DICTAMINADOR

LA TESIS: EFECTO DEL PORCENTAJE DE GRÁNULOS DE KÉFIR Y TEMPERATURA DE INCUBACIÓN EN LA ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA FUNCIONAL; para optar el Título Profesional de Ingeniera Agroindustrial, ha sido evaluada por el Jurado Dictaminador conformado por:

**PRESIDENTE:** Ing. Mg. Denis Hernán Gutiérrez Martínez

**PRIMER MIEMBRO:** Ing. MSc. Carlos Alberto Ligarda Samanez

**SEGUNDO MIEMBRO:** Ing. MSc. Abel Isaías Barrial Lujan

Habiendo sido aprobado por UNANIMIDAD, en la ciudad de Andahuaylas el día 14 de noviembre de 2019.

Andahuaylas, 20 de noviembre de 2019

---

Ing. Mg. Denis Hernán Gutiérrez Martínez  
**PRESIDENTE DEL JURADO EVALUADOR**

---

Ing. MSc. Carlos Alberto Ligarda Samanez  
**PRIMER MIEMBRO DEL JURADO EVALUADOR**

---

Ing. MSc. Abel Isaías Barrial Lujan  
**SEGUNDO MIEMBRO DEL JURADO EVALUADOR**

## **DEDICATORIA**

A mi querido padre Alfonso, solo la memoria de tu vida me da sustento para enfrentarme al futuro. A mi madre Virginia, por desear y anhelar lo mejor para mí, gracias por tu apoyo incondicional y consejos sabios. A mi hermano Richard, mis hermanas Margot, Ruth, Karina y Yakelin, por ser mi motivación y ejemplo de vida. A mi cuñada, cuñados, sobrinos y sobrinas, por confiar y creer en mí.

**Deisy.**



## AGRADECIMIENTOS

- ✓ A la Universidad Nacional José María Arguedas, muy en particular a la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial (EPIA) por haberme acopiado y formado profesionalmente asimismo, permitido utilizar los laboratorios para realizar la presente investigación.
- ✓ A mi asesor Ing. Mg. Fredy Taipe Pardo, quien desde el primer momento me ha brindado su apoyo a lo largo de mi formación profesional, por la paciencia, apoyo y dedicación de tiempo durante la elaboración y ejecución del proyecto.
- ✓ A mis jurados de tesis Ing. Mg. Denis Hernán Gutiérrez Martínez, Ing MSc. Carlos Alberto Ligarda Samanez e Ing. MSc. Abel Isaías Barrial Lujan, por su paciencia y consejos brindados,
- ✓ Al Msc. Ing. David Choque Quispe, por su apoyo durante el desarrollo de la tesis.
- ✓ A mis docentes, por la formación profesional y experiencias impartidas en las aulas universitarias.
- ✓ A mis amigos y a todas aquellas personas que de una u otra manera han contribuido para el desarrollo de esta investigación.

## ÍNDICE GENERAL

APROBACIÓN DEL ASESOR.....	ii
DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD .....	iii
ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS .....	iv
APROBACIÓN DEL JURADO DICTAMINADOR.....	v
ÍNDICE DE TABLAS .....	x
ÍNDICE DE FIGURAS .....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS .....	xii
ABREVIATURAS, SÍMBOLOS Y UNIDADES .....	xiii
RESUMEN .....	xv
ABSTRACT .....	xvi
CHUMASQA.....	xvii
INTRODUCCIÓN .....	1
CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN .....	3
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	3
CAPÍTULO II: ANTECEDENTES .....	4
2.1. ANTECEDENTES INTERNACIONALES .....	4
2.2. ANTECEDENTES NACIONALES .....	6
CAPITULO III: MARCO TEÓRICO .....	7
3.1. BASES TEÓRICAS .....	7
3.1.1. BEBIDAS FUNCIONALES .....	7
3.1.2. PROBIÓTICOS.....	7
3.1.3. LECHE .....	9
3.1.4. LECHE FERMENTADA.....	10
3.1.5. CLASIFICACIÓN DE LAS LECHE FERMENTADAS .....	14
3.1.6. BEBIDA DE KÉFIR .....	16
3.1.7. GRÁNULOS DE KÉFIR.....	18
3.1.8. KEFIRAN .....	19
3.1.9. PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS .....	19
3.1.10. PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS .....	20
3.1.11. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL KÉFIR .....	20
3.1.12. CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS .....	21
3.1.13. PRESERVACIÓN DE LOS GRÁNULOS DE KÉFIR .....	23
3.2. MARCO CONCEPTUAL .....	23



<b>CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN</b> .....	25
<b>4.1. LUGAR DE EJECUCIÓN</b> .....	25
<b>4.2. MATERIALES, INSTRUMENTOS Y EQUIPOS</b> .....	25
<b>4.3. POBLACIÓN Y MUESTRA</b> .....	28
<b>4.4. TIPO DE INVESTIGACIÓN</b> .....	28
<b>4.5. ANÁLISIS PRELIMINAR A LA MATERIA PRIMA</b> .....	29
<b>4.6. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL</b> .....	34
<b>4.7. DISEÑO EXPERIMENTAL</b> .....	39
<b>CAPÍTULO V: RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	44
<b>5.1. CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS</b> .....	44
<b>5.1.1. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE ALCOHOL</b> .....	44
<b>5.1.3. COMPOSICIÓN PROXIMAL</b> .....	48
<b>5.2. CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS</b> .....	49
<b>5.2.1. RECUENTO DE COLIFORMES TOTALES</b> .....	49
<b>5.2.2. RECUENTO DE HONGOS Y LEVADURA</b> .....	49
<b>5.3. CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS</b> .....	51
<b>CONCLUSIONES</b> .....	55
<b>RECOMENDACIONES</b> .....	56
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	57
<b>ANEXOS</b> .....	61

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Microorganismos utilizados como probióticos .....	8
<b>Tabla 2.</b> Promedio de la composición química de la leche .....	9
<b>Tabla 3.</b> Principales grupos de bacterias lácticas y levaduras presentes en el kéfir .....	17
<b>Tabla 4.</b> Requisitos fisicoquímicos del kéfir .....	19
<b>Tabla 5.</b> Requisitos microbiológicos de las leches fermentadas .....	20
<b>Tabla 6.</b> Composición química del kéfir y leche.....	21
<b>Tabla 7.</b> Lista de equipos e instrumentos .....	26
<b>Tabla 8.</b> Lista de materiales .....	26
<b>Tabla 9.</b> Lista de reactivos e insumos de laboratorio .....	27
<b>Tabla 10.</b> Lista de recursos no disponibles.....	27
<b>Tabla 11.</b> Matriz de diseño experimental .....	39
<b>Tabla 12.</b> Análisis de composición proximal para el T3 .....	39
<b>Tabla 13.</b> ANVA para el diseño 3 <sup>2</sup> .....	42
<b>Tabla 14.</b> Porcentaje de alcohol para la bebida funcional.....	44
<b>Tabla 15.</b> Porcentaje de pH para la bebida funcional.....	46
<b>Tabla 16.</b> Resultados composición proximal .....	48
<b>Tabla 17.</b> Reporte de levaduras en la bebida funcional .....	49
<b>Tabla 18.</b> Evaluación del Kéfir.....	52
<b>Tabla 19.</b> Análisis de varianza para los atributos sensoriales.....	53

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Gránulos de kéfir.....	18
<b>Figura 2.</b> Estructura del kefir.....	19
<b>Figura 3.</b> Diagrama de flujo obtención de gránulos de kéfir.....	32
<b>Figura 4.</b> Diagrama experimental para la adaptación de gránulos de kéfir .....	33
<b>Figura 5.</b> Diagrama de flujo de elaboración de Kéfir .....	35
<b>Figura 6.</b> Diagrama de metodología experimental por cada tratamiento.....	36
<b>Figura 7.</b> Gráfica de Medias para el porcentaje de alcohol.....	45
<b>Figura 8.</b> Gráfica de Interacciones para el porcentaje de alcohol.....	46
<b>Figura 9.</b> Gráfica de Medias para el pH.....	47
<b>Figura 10.</b> Gráfica de Interacciones para el pH.....	47
<b>Figura 11.</b> Gráfica de Medias para el recuento de levaduras .....	50
<b>Figura 12.</b> Gráfica de Interacciones para el recuento de levaduras .....	51
<b>Figura 13.</b> Diagrama radial para la evaluación organoléptica.....	53

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> Reporte del análisis físico-químico de la leche.....	61
<b>Anexo 2.</b> Interacción de variables independientes para la elaboración de la bebida fermentada .....	62
<b>Anexo 3.</b> Resultado del análisis de porcentaje de alcohol de todos los tratamientos con sus respectivas replicas.....	63
<b>Anexo 4.</b> Resultado del análisis de pH de todos los tratamientos con sus respectivas replicas.....	64
<b>Anexo 5.</b> Resultado del análisis recuento de levaduras de todos los tratamientos con sus respectivas replicas .....	65
<b>Anexo 6.</b> Escala hedónica para evaluar la aceptabilidad general de una bebida funcional.....	66
<b>Anexo 7.</b> Datos individuales de la evaluación sensorial respecto al olor .....	67
<b>Anexo 8.</b> Datos individuales de la evaluación sensorial respecto al color.....	68
<b>Anexo 9.</b> Datos individuales de la evaluación sensorial respecto al sabor .....	69
<b>Anexo 10.</b> Datos individuales de la evaluación sensorial respecto a la textura .	70
<b>Anexo 11.</b> ANVA para el porcentaje de alcohol .....	71
<b>Anexo 12.</b> ANVA y pruebas de múltiples rangos para el pH.....	72
<b>Anexo 13.</b> Informes de laboratorio del análisis de composición proximal de la bebida funcional T3.....	74
<b>Anexo 14.</b> ANVA y pruebas de múltiples rangos para levaduras .....	75
<b>Anexo 15.</b> ANVA y pruebas de múltiple rangos para el color .....	77
<b>Anexo 16.</b> ANVA y pruebas de múltiple rangos para el olor .....	78
<b>Anexo 17.</b> ANVA y pruebas de múltiple rangos para el sabor.....	79
<b>Anexo 18.</b> ANVA y pruebas de múltiple rangos para la textura.....	80
<b>Anexo 19.</b> Imágenes de los análisis preliminares de la leche .....	81
<b>Anexo 20.</b> Imágenes de la producción y adaptación de gránulos de kéfir .....	82
<b>Anexo 21.</b> Imágenes de elaboración de bebida funcional .....	83
<b>Anexo 22.</b> Imágenes de determinación del porcentaje de alcohol y pH.....	84
<b>Anexo 23.</b> Imágenes de recuento de coliformes totales, hongos y levaduras ...	85
<b>Anexo 24.</b> Imágenes de análisis organoléptico .....	86
<b>Anexo 25.</b> Matriz de consistencia .....	87

## ABREVIATURAS, SÍMBOLOS Y UNIDADES

ANVA	:	Análisis de la varianza
AOAC	:	Association of official analytical chemists
BAL	:	Bacterias ácido lácticas
BAM	:	Manual de Análisis Bacteriológicos
C <sub>1</sub>	:	Concentración de gránulo uno
C <sub>2</sub>	:	Concentración de gránulo dos
C <sub>3</sub>	:	Concentración de gránulo tres
cm	:	Centímetros
CO <sub>2</sub>	:	Dióxido de carbono
CPH	:	Prueba de coagulación por hervido
g	:	Gramos
H <sub>2</sub> O	:	Agua
HTST	:	High temperature short time
INEI	:	Instituto nacional de estadística e informática
INIA	:	Instituto nacional de innovación agraria
kcal	:	Kilocalorías
kg	:	Kilogramos
L	:	Litros
ml	:	Mililitros
mm	:	Milímetros
MP	:	Muestra patrón
MPa	:	Mega Pascales
NaOH	:	Hidróxido de sodio
N	:	Normalidad
NTP	:	Norma técnica peruana
p	:	Peso de la muestra
pH	:	Potencial de hidrogeniones
PNIA	:	Programa nacional de investigación agraria
pi	:	Peso inicial

pf	:	Peso final
rpm	:	Revoluciones por minuto
s	:	Segundos
S.T.	:	Sólidos totales
s/.	:	Soles
SEP	:	Secretaría de educación pública
S/M	:	Sin marca
T	:	Temperatura
T <sub>1</sub>	:	Temperatura uno
T <sub>2</sub>	:	Temperatura dos
T <sub>3</sub>	:	Temperatura tres
T1	:	Tratamiento uno
T2	:	Tratamiento dos
T3	:	Tratamiento tres
T4	:	Tratamiento cuatro
T5	:	Tratamiento cinco
T6	:	Tratamiento seis
T7	:	Tratamiento siete
T8	:	Tratamiento ocho
T9	:	Tratamiento nueve
UFC	:	Unidad formadora de colonias
UHT	:	Ultra high temperature
V	:	Volumen de la muestra
VRBA	:	Agar bilis y rojo violeta
°C	:	Grados Celsius
$\rho$	:	Densidad
$\bar{x}$	:	Media
S	:	Desviación estándar
%	:	Porcentaje
% Gran	:	Porcentaje de gránulos

## RESUMEN

El estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto del porcentaje de gránulos de kéfir (5, 10 y 15 %) y temperatura de incubación (20, 25 y 30 °C) en las características fisicoquímicas, microbiológicas y organolépticas de una bebida funcional.

Los análisis realizados fueron: porcentaje de alcohol, pH, composición proximal, recuento de coliformes totales, hongos, levaduras y evaluación organoléptica. Se realizó un Análisis de Varianza (ANVA), seguido de una prueba de múltiples rangos Tukey. Para dichos análisis se empleó el estadístico Statgraphics Centurión XVI, Minitab 17 y Excel 2013 (Software libre).

Respecto a las características fisicoquímicas, en el porcentaje de alcohol los tratamientos presentaron el mismo resultado, es decir, no presentaron diferencia estadísticamente significativa, en el pH se observa que el T1 obtiene el mayor contenido de pH 6.03 y el T9 obtiene el menor contenido de pH 4.15, además se observa que a mayor porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación el valor del pH desciende, referente al análisis de composición proximal se analizó la muestra del T3. En las características microbiológicas se observó ausencia de coliformes totales y hongos, este es un indicador de que la bebida funcional se elaboró en condiciones higiénicas adecuadas. Con respecto al recuento de levaduras los resultados varían desde 6959.52 UFC/mL a 14768.82 UFC/mL, además se observa que a mayor porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación aumenta las UFC. En las características organolépticas, las apreciaciones oscilan desde me disgusta a me gusta, además las muestras de los tratamientos son diferentes con respecto a la muestra. Por lo tanto, se concluye que el porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación tienen efecto sobre las características fisicoquímicas, microbiológicas y organolépticas de la bebida funcional ya que estas presentan valor-p menor a 0.05.

**Palabras claves:** Bebida funcional, gránulos de kéfir, características fisicoquímicas, microbiológicas y organolépticas.



## ABSTRACT

The study aimed to evaluate the effect of the percentage of kefir granules (5, 10 and 15 %) and incubation temperature (20, 25 and 30 ° C) on the physicochemical, microbiological and organoleptic characteristics of a functional beverage.

The analyzes performed were: percentage of alcohol, pH, proximal composition, total coliform count, fungi, yeasts and organoleptic evaluation. In the statistical analysis, the 3<sup>2</sup> factorial design was used, where a Variance Analysis (ANVA) was performed, followed by a multi-range test. For these analyzes the statistic Statgraphics Centurion XVI, Minitab 17 and Excel 2013 (Free software) was used. Regarding the physicochemical characteristics, in the percentage of alcohol, the treatments had the same result, that is, they did not show statistically significant difference, in the pH it is observed that T1 obtains the highest content of pH 6.03 and T9 obtains the lowest content of pH 4.15, it is also observed that at a higher percentage of kefir granules and incubation temperature the pH value drops, referring to the analysis of the proximal composition, the T3 sample was analyzed. In the microbiological characteristics, the absence of total coliforms and fungi was observed, this is an indicator that the functional drink was prepared under adequate hygienic conditions. With respect to the yeast count, the results vary from 6959.52 CFU/mL to 14768.82 CFU/mL, and it is observed that the higher the percentage of kefir granules and incubation temperature, the CFU increases. In the organoleptic characteristics, the evaluations range from dislike to likes, in addition the samples of the treatments are different with respect to the sample. Therefore, it is concluded that the percentage of kefir granules and incubation temperature have an effect on the physicochemical, microbiological and organoleptic characteristics of the functional beverage since these have a p-value less than 0.05.

**Keywords:** Functional drink, kefir granules, physicochemical, microbiological and organoleptic characteristics.

## CHUMASQA

Kay yachay taqwiri y qatipaymi aypayta munarqa, hinaspa tupuyta pachakchasqa rurayninta kéfir urukunamanta (5, 10 hinaspa 15%) ullqachispa quñiriyintaq (20, 25 hinaspa 30 °C) imaymana rikchayninta fisicoquímicasnisqa, microbiológicasnisqa hinaspa organolépticasnisqa huk allin chuymasqa yakun upyanapaq kananapaq.

Maskarqa taripananpaq: pachakchasqa tallin alcoholnisqa, pH, hichpanpi tarikuq tupanachiy coliformesnisqa totalesnisqawan, kallanpasqa, qunchuta hinaspa tupuy qatipaspa llapan rikchayninta organolépticasnisqa rikusqanmanhina. Yupaykunapa yachay taripasqanmanhinam rurakurqa churasqa (ANVA), qatinqinpi rurakurqa achka taripay Tukeynisqawan. Chay ruranakunapaqmi hapikurqa yupaykunapa yachay taripasqanmanhinam Statgraphics Centuriónnisqa XVI, Minitab 17 y Excelnisqa 2013 (Software nisqa librepi).

Chaymanta rikchaynin fisicoquímicasnisqa, pachakchasqa tallin alcoholnisqa, qatipayninpi qawachikurqa imam kaqllata, nichwan, manam karqachu hukniraa qawakuy, yupaykunaman qatipaypi musuqkaq, pH qawakun chay T1 llusqirqa achka niraqta pH 6.03 hinaspa chay T9 urqun pisi kaqllata pH 4.15, chaymanta rikukun achka pachakchasqa murun chay kéfirpa, hinaspa ullqachispa quñiriyintaq chaninchaspa Ph uraykuspa, chaynataq qatipaynin anchuykusqa chay qawachiy T3. Chay qawarichikuynin microbiológicasnisqapi mana tarikurqachu coliformes totalesnisqa, chaynataq kunasasqan, kaywanmi riqsichin hinaspa qawachin mana qillichasqa, allin chuya kay yaku upyanapaq rurasqa kasqanta. Hinaspa qunchuwan tupachiynin hukman tikran chay 6959.52 UFC/mL asta 14768.82 UFC/mL, chaymanta rikukurqa achka pachakchasqa miraynin chaqisqa patasqallaña chay kéfirnisqapa, hinaspa quñipi quñiriyin yapakun UFC. Riqsichikurqa organolépticasnisqa, rimariykunam karqa munanim, ñuqa munanim niqkuna, chaymanta chuymayninkuna hukniraqkarqa. Chaynaqa tukupanapaq rimariyman chaykun chay murun chaqisqa kéfirnisqapa hinaspa quñipi quñiriyin kanmi rikuriynin chay patminkunapi fisicoquímicasnisqa, microbiológicasnisqa hinaspa organolépticasnisqa, chay kéfirpa upyana yaku allin chaninchasqa urqukunqa -p uraykunqa chay 0.05.

**Pisi rimayllapi riqsichiy:** chuya upyana yaku, chapqa murun kéfirnisqa, rikchaynin fisicoquímicasnisqa, microbiológicasnisqa hinaspa organolépticasnisqa.

## INTRODUCCIÓN

En el sector Rural y Urbano de la Región Apurímac se observa una buena aceptabilidad de la leche de vaca, sobre todo en sus derivados como el yogur. Sin embargo, existen otros derivados lácteos como el Kéfir, dicha bebida funcional sería una alternativa de consumo debido a su fácil elaboración y aporte de nutrientes.

La mayoría de las investigaciones se han centrado en estudiar el efecto que genera la interacción de ciertos parámetros de producción de una bebida funcional con respecto a sus características fisicoquímicas, microbiológicas, organolépticas, etc., parámetros como el tiempo y temperatura de incubación, tipos de leches y temperaturas de incubación entre otros, no se encontró investigación alguna que muestre el efecto del porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación en algunas características de dicha bebida.

Por lo que la presente investigación tiene como objetivo general determinar el efecto del porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación en las características fisicoquímicas, microbiológicas y organolépticas de una bebida funcional.

Y como objetivos específicos:

- ✓ Determinar el efecto del porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación en las características fisicoquímicas (% de alcohol, pH y composición proximal) de una bebida funcional.
- ✓ Determinar el efecto del porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación en las características microbiológicas (recuento de coliformes totales, hongos y levaduras) de una bebida funcional.
- ✓ Determinar el efecto del porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación en las características organolépticas (color, olor, sabor y textura) de una bebida funcional.

Este trabajo contiene los siguientes capítulos: en el primer capítulo que lleva por título Planteamiento de la Investigación, describe el planteamiento del problema. En el segundo capítulo denominado Antecedentes comprenden los antecedentes internacionales y antecedentes nacionales.

El tercer capítulo denominado Marco teórico contiene las bases teóricas y marco conceptual.

En el cuarto capítulo contiene la Metodología de Investigación, el cual comprende el lugar de ejecución, materiales de investigación, población y muestra, tipo de investigación, metodología experimental y diseño experimental.

En el quinto capítulo se desarrollan los Resultados y Discusiones para las características fisicoquímicas, microbiológicas y organolépticas. Finalmente expongo las conclusiones y recomendaciones generadas en el desarrollo de la investigación.

## **CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN**

### **1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

El Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI) dio a conocer que en el 2017, la desnutrición crónica afectó al 12,9 % de las niñas y niños menores de cinco años de edad, cifra que disminuyó en el último año en 0,2. Las tasas más altas de desnutrición crónica en la población menor de cinco años de edad fueron reportadas en Huancavelica (31,2 %), Cajamarca (26,6 %), Loreto (23,8 %), Pasco (22,8 %), Apurímac (20,9 %) y Ayacucho (20,0 %). Para el 2018 dicha desnutrición había afectado al 12,2 %, reduciéndose en un 0.7, con respecto a la Región de Apurímac se presentó una tasa de 20,1 %, reduciéndose en el último año en un 0.8.

Dentro de las bebidas funcionales encontramos al kéfir, una leche fermentada propiamente dicha. Entre sus múltiples ventajas está el reforzamiento de las defensas inmunitarias, influye en el equilibrio de la flora intestinal, regula las funciones del organismo, mejora la capacidad de asimilación de los alimentos, reduce los síntomas de la intolerancia a la lactosa, entre otros, haciendo que su consumo represente un beneficio extra para la salud de las personas. La malnutrición tiene un alto impacto en la sociedad, especialmente en la desnutrición infantil con repercusiones físicas y cognitivas, que se pueden presentar en el individuo en todas sus etapas de vida. Esta leche fermentada viene siendo desaprovechada debido al desconocimiento de la población pese a que cuenta con propiedades beneficiosas para la salud. Para la obtención de este producto es fundamental conocer los parámetros óptimos de producción; tales como, el porcentaje de gránulos de kéfir, temperatura de incubación, entre otros, existen diversas investigaciones teniendo en cuenta a dichos parámetros pero por separados, no existe una investigación para conocer el efecto de la interacción de estos dos parámetros. Considerando estos aspectos, se propone investigar el efecto del porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación en la elaboración de una bebida funcional. Queriendo así en lo posterior insertarla en el mercado comercial, a fin de plantearla como alternativa de consumo frente a otras bebidas fermentadas y así combatir la desnutrición crónica debido a su alto aporte nutricional.

## CAPÍTULO II: ANTECEDENTES

### 2.1. ANTECEDENTES INTERNACIONALES

- 2.1.1. Gálvez y Heras (2012), "Estudio experimental sobre la obtención de kéfir (leche kefirada) en nuestro medio, partiendo de la reproducción y mantención de los nódulos de kéfir" determinó el efecto del porcentaje de gránulos de kéfir (5, 10, 15 y 20 %), temperatura (12, 18, 27 y 29 °C) y leche entera y descremada. En la obtención de la leche fermentada, se basaron en el criterio de parámetros de acidez y alcohol. Se dieron un total de dieciséis pruebas ensayadas. Concluyendo que la proporción óptima para obtener el producto se logra a las 12 horas, esta condición se refiere a 10 % de nódulos/leche, leche entera, temperatura ambiente. Las pruebas de análisis sensorial dieron por resultado una aceptación de casi 70 % agradable al gusto.
- 2.1.2. Santos y Vega (2012), "Estandarización del proceso de fermentación de leche entera ultrapasteurizada con gránulos de kéfir", evaluaron el efecto del tiempo y temperatura de una leche fermentada. Realizaron análisis fisicoquímico, microbiológico y organoléptico, bajo las condiciones óptimas de fermentación. Los resultados reportados fueron los siguientes valores: 89.04 % de humedad, 10.95% de sólidos totales, 0.69 % de cenizas, 0.77 % de acidez expresada como ácido láctico, 3.31 % de grasa, 3.22 % de proteína total y los resultados obtenidos en el recuento de hongos y levaduras, recuento de coliformes totales fueron conformes a lo establecidos en la norma. Concluyendo que el producto se considera apto para el consumo humano y que los parámetros óptimos de producción para obtención de la bebida se encuentran a una temperatura de 25 °C durante 6 horas, porque se obtiene mayor biomasa, con un pH y acidez titulable conforme a los parámetros establecidos.
- 2.1.3. Bolaños y Jiménez (2014), "Elaboración de dos bebidas, fermentadas con gránulos de kéfir en agua y leche, para corroborar si son bebidas probióticas según la norma INEN 2395-2011", realizó un conteo de bacterias probióticas y además, realizó análisis físico químicos, microbiológicos y organolépticos en las bebidas fermentadas con gránulos de kéfir, la metodología de investigación fue descriptiva. Se obtuvieron los siguientes valores de kéfir en agua y leche respectivamente: pH de 3.95 y

4.94, humedad relativa 40-55 % y 35-50 %, bacterias probióticas  $2.4 \times 10^7$  UFC/g y  $2 \times 10^9$  UFC/g. En el análisis organoléptico se dio los siguientes valores en kéfir de agua y leche respectivamente: color café y blanco, olor cítrico y ácido, sabor ligeramente ácido y ácido. Concluyó que ambas bebidas tras provenir de una misma materia prima, considerándolos de esta manera a los gránulos de kéfir, tienen las mismas propiedades probióticas. En lo que respecta a los análisis físico-químicos existe una variación en sus resultados debido a los medios con los que se fermento y en los resultados organolépticos la bebida fermentada a base de agua resulta más agradable para el consumidor.

- 2.1.4. Garcia y Hernandez (2015), "Fermentación de leche descremada uht a partir de gránulos de kéfir", determinaron el aumento de la biomasa de los gránulos de kéfir durante doce fermentaciones consecutivas a temperaturas de 20 °C, 25 °C y 30 °C. A los cuales se les realizaron análisis fisicoquímico, microbiológico y organoléptico. Los datos obtenidos fueron: acidez ( $0.74 \pm 0.05$ ) %, humedad ( $92.42 \pm 0.09$ ) %, sólidos totales ( $7.58 \pm 0.09$ ) %, cenizas ( $0.54 \pm 0.01$ ) %, proteína ( $4.43 \pm 0.03$ ) %, grasa 0%, recuento de bacterias ácido lácticas mayor de  $6.5 \times 10^9$  UFC/g, contenido de levadura mayor de 104 UFC/g. ausencia de Coliformes totales y hongos. Los resultados fueron conforme con la Norma internacional CODEX STAN 243-2003. Norma del CODEX para leches fermentadas y con la Especificación Técnica Cubana NC-TS 457:2007. Posteriormente a una porción de leche fermentada le agregaron sabor a fresa en polvo obteniendo una mayor aceptación el producto saborizado. Concluyendo que con los datos obtenidos se permite afirmar que el producto elaborado es apto para el consumo humano.
- 2.1.5. Gutierrez et al. (s.f), "Efecto del porcentaje de inóculo y tiempo de incubación sobre las características físico-químicas del kéfir", determinó los cambios de viscosidad, pH, sinéresis, producción de ácido láctico, etanol y atributos sensoriales con respecto al tiempo de incubación y porcentaje de inóculo liofilizado, usando una relación de 1,2 y 3% de inóculo y 24, 36 y 48 horas de incubación. El máximo porcentaje de alcohol se encontró a las 48 horas, con un porcentaje de inóculo de 3% y la viscosidad se alcanzó a las 28 horas con el mismo porcentaje.



Concluyeron que la variación del porcentaje de inóculos 1, 2 y 3 % no tuvo efecto significativo en la producción.

## **2.2. ANTECEDENTES NACIONALES**

- 2.2.1. Chirinos y Camacho (2012), “Grado de aceptabilidad, análisis microbiológico y composición química del kéfir” determinó la composición química, calidad microbiológica y la prueba de medición del grado de aceptabilidad en diferentes tiempos de fermentación, usando una relación de 1:9 (10 % de granos de kéfir y 90 % de leche), la metodología de la investigación fue analítico descriptivo. En el análisis químico se encontraron los valores de: proteínas 1.8 % y 1.9 %, grasa 2.4 y 1.7 %, carbohidratos 5.16 y 8.46 %, humedad 88.32 y 87.06 %, ceniza 2.33 y 0.88 % y energía 49.42 kcal y 56.73 kcal respectivamente. En el análisis microbiológico dio APTAS para el consumo humano en ambas muestras y obtuvieron la misma aceptación. Concluyendo estadísticamente que no existe diferencia significativa en cuanto a la aceptación de los dos kéfirs, ya sea en color, olor y sabor.
- 2.2.2. Pretell y Urraca (2012), “Características fisicoquímicas y aceptabilidad general de un kéfir de leche de vaca (*Bos taurus*) y de cabra (*Capra hircus*)”, comparó dos tipos de kéfir mediante un análisis fisicoquímico: pH, % de Alcohol, % Acides titulable y Viscosidad, y además evaluó la aceptabilidad general mediante una escala hedónica. Se consideró un nivel de confianza del 95%. En el kéfir a partir de la leche de cabra se reportó lo siguiente: pH 4.48, alcohol 0.056 %, acidez titulable 0.49 %, viscosidad 299.00 mPas. Mientras que en el kéfir a partir de leche de vaca se reportó lo siguiente: pH 4.46, alcohol 0.056 %, acidez titulable 0.48 % y viscosidad 281.27 mPas. Concluyendo que el kéfir elaborado a partir de la leche de cabra obtuvo mejores resultados en los análisis fisicoquímicos y en la aceptabilidad general reportó el mayor valor promedio correspondiente a “Me gusta mucho”.

## CAPITULO III: MARCO TEÓRICO

### 3.1. BASES TEÓRICAS

#### 3.1.1. BEBIDAS FUNCIONALES

Las bebidas funcionales son aquellos alimentos que contienen componentes biológicamente activos que ofrecen beneficios para la salud y reducen el riesgo de sufrir enfermedades. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (2005).

Las bebidas funcionales son aquéllos que proporcionan un efecto beneficioso para la salud más allá de su valor nutricional básico. No constituyen un grupo de alimentos y bebidas como tal, sino que resultan de la adición, sustitución o eliminación de ciertos componentes a los alimentos habituales, si bien en un concepto amplio de alimento funcional se incluyen no sólo los productos manufacturados, sino también ciertos alimentos tradicionales (aceite de oliva, tomate, legumbres, etc.) que contienen componentes con “otras propiedades” beneficiosas para la salud que los avances científicos van descubriendo, más allá de las conocidas desde el punto de vista nutricional clásico. Ramos, Romero, Wärnberg y Marcos. (2007).

#### 3.1.2. PROBIÓTICOS

Son microorganismos vivos no patógenos que tienen un impacto significativo en la composición de la microbiota intestinal, tanto cualitativa como cuantitativamente dado su potencial de producción de metabolitos benéficos, promoción de la absorción de minerales e inhibir el crecimiento de microbiota patógena. García et al. (2011).

Los microorganismos más utilizados en este tipo de alimentos pertenecen a los géneros *Lactobacillus*, *Streptococcus* y *Bifidobacterium*, que se engloban dentro de las bacterias ácido-lácticas (BAL). Aunque existe una lista más amplia de microorganismos que son candidatos a ser utilizados como probióticos, Tabla (1). Ramos et al. (2007).

**Tabla 1. Microorganismos utilizados como probióticos**

**LACTOBACILLUS**

- *Lb. Acidophilus*
  - *Lb. acidophilus LCI*
  - *Lb. acidophilus NCFB 174B*
- *Lb. Plantarum*
- *Lb. Casei*
  - *Lb. casei shirota*
- *Lb. rhamnosus (estirpe GG)*
- *Lb. Brevis*
- *Lb. delbrueckii subsp. Bulgaricus*
- *Lb. Fermentum*
- *Lb. Helveticus*

**BIFIDOBACTERIUM**

- *C. bifidum*
- *B. longum*
- *B. infantis*
- *B. breve*
- *B. adolescentes*

**OTRAS BACTERIAS**

- *Streptococcus salvarius subsp. Thermophilus*
- *Lactococcus lactis subsp. Lactis*
- *Lactococcus lactis subsp. Cremoris*
- *Enterococcus faecium*
- *Leuconmostoc mesenteroides subsp.*
- *Dextranicum*
- *Propionibacterium freudenreichii*
- *Pediococcus acidilactici*
- *Escherichia coli*

**LEVADURAS**

- *Saccharomyces boulardii*

**Fuente:** Ramos, et al., (2007).

**Efectos probióticos sobre la salud**

Ramos, et al., (2007). indican, entre los efectos beneficiosos de los probióticos para la salud se pueden enumerar los siguientes:

- Estimulación de la respuesta inmunitaria.
- Mejora del equilibrio de la microflora intestinal.
- Efecto adyuvante en la vacunación.
- Reducción de las enzimas fecales implicadas en la iniciación del cáncer.
- Tratamiento de la diarrea del viajero.
- Terapia antibiótica (control de Rotavirus y de *Clostridium difficile*, así como de úlceras relacionadas con *Helicobacter pylori*).

- Reducción del colesterol sérico.
- Antagonismo con patógenos originados en alimentos y con microorganismos que provocan caries.
- Reducción de los síntomas de mal absorción de la lactosa.
- Prevención del eczema atópico.

### 3.1.3. LECHE

La leche se define como la secreción natural de las glándulas mamarias de los mamíferos destinada como alimento para sus crías. Entre las especies domésticas existen algunas especializadas en la producción de leche para consumo humano. García et al. (2011)

#### Composición química de la leche

Los principales componentes de la leche son los siguientes: agua, sales minerales, lactosa, grasa, vitaminas. Aproximadamente 58 % de la leche es agua. En la Tabla (2) se muestra el promedio de la composición química de la leche. Secretaria de Educación Pública (SEP, 2006).

**Tabla 2.** Promedio de la composición química de la leche

Componente	Porcentaje (%)
Agua	87.6
Grasa	3.7
Proteína	3.2
Lactosa	4.8
Sales minerales	0.7

**Fuente:** SEP, 2006.

#### Pasteurización

Una vez que se han removido las impurezas sólidas de la leche y esta ha sido estandarizada, es necesario eliminar los microorganismos patógenos presentes es para garantizar la inocuidad de la leche. Con este fin, la leche se somete al proceso de pasteurización. El término “Pasteurización” se refiere al tratamiento térmico al que se la leche o cualquier alimento consistente en una relación de temperatura y tiempo que garantice la destrucción de organismos patógenos. García et al. (2011).

Los productos lácteos fermentados pueden sufrir alteraciones microbiológicas, químicas y físicas. Los mohos y levaduras son capaces

de seguir creciendo a un pH inferior a 3,8 y, por lo tanto, son sin duda los principales agentes de deterioro microbiano. Es imprescindible pasteurizar la leche y evitar su recontaminación posterior. Walstra, Geurts, Noomen, Jellema, Van Boekel (2001).

#### **3.1.4. LECHE FERMENTADA**

La leche fermentada es un producto lácteo obtenido por medio de la fermentación de la leche, que puede haber sido elaborado a partir de productos obtenidos de la leche con o sin modificaciones en su composición, por medio de la acción de microorganismos adecuados y teniendo como resultado la reducción del pH con o sin coagulación (precipitación isoeléctrica). Estos cultivos de microorganismos serán viables, activos y abundantes en el producto hasta la fecha de duración mínima. Si el producto es tratado térmicamente luego de la fermentación, no se aplica el requisito de microorganismos viables. (Codex alimentarius, 2003, p. 7)

##### **3.1.4.1. Conservación**

Walstra et al. (2001). Indica que la fermentación es una forma simple, barata y segura de conservar la leche. Las bacterias lácticas modifican las características de la leche, de forma que la mayoría de microorganismos indeseables, incluidos los patógenos, no pueden crecer en ella, o incluso mueren. Entre los cambios que se produce en la leche están el descenso del pH, la inhibición del desarrollo microbiano, etc. La correcta pasteurización de la leche cruda destruye cualquier patógeno que pudiera sobrevivir a la fermentación. Cuando los productos fermentados se conservan durante mucho tiempo, o cuando se mantienen a una alta temperatura, la actividad enzimática de las bacterias lácticas continúa, y pueden originar defectos como amargor, acidez y sabores a queso. La principal manifestación de la alteración física es la separación del suero. Entre los factores que influyen sobre la aparición de este defecto se pueden citar los siguientes:

- a) **Pre tratamiento de la leche.** Algunas de las etapas del proceso que aumentan la viscosidad (pasteurización, homogenización) reduce el riesgo de separación de suero.
- b) **Composición de la leche.** Cuanto menor es el contenido de caseína, con mayor facilidad aparece el defecto.
- c) **Temperatura de incubación.** Cuanta más alta es la temperatura de incubación, mayor es la tendencia a la separación de suero.
- d) **El pH del producto.** Tanto un pH muy alto como uno muy bajo, favorecen la separación del suero. El cultivo indicador debe suficiente activo y es necesario conservar el producto en refrigeración.
- e) **Las acciones mecánicas.** Sobre la leche fermentada, como la agitación y el bombeo, deben realizarse cuidadosamente, y sobre todo, antes que el pH descienda por debajo de 5.
- f) **Presencia de burbujas de aire y gas.** La incorporación de aire durante la elaboración del producto favorece el desuerado. El gas producido por coliformes, levaduras, etc., tiene el mismo efecto. La excesiva conformación de CO<sub>2</sub> por las bacterias del cultivo, también puede ser perjudicial, y la presencia de este gas puede deberse al paso del CO<sub>2</sub> disuelto al estado gaseoso, como consecuencia de un aumento de la temperatura.

#### 3.1.4.2. Valor nutritivo

Walstra et al. (2001). Los estudios sobre el valor nutritivo de las leches fermentadas se han centrado fundamentalmente en el yogur y la mayor parte de los mismos se ha realizado con animales. No resulta fácil extrapolar los resultados obtenidos en estos experimentos a los efectos que los productos fermentados pueden tener sobre la humanidad.

#### 3.1.4.3. Composición

Walstra et al. (2001). Indica la siguiente:

- a) Contenido de lactosa. La fermentación reduce el contenido de lactosa, pero el proceso no se desarrolla hasta que se agotan los azúcares, porque el pH sería excesivamente bajo y el producto demasiado ácido. Cuando el contenido en ácido láctico alcanza,

por ejemplo, el 0.9%, la fermentación se detiene por refrigeración. En ese momento, se ha hidrolizado el 20% de la lactosa de la leche, cuando se fermentan tanto la glucosa como la galactosa.

- b) Contenido de vitaminas. Generalmente, las bacterias lácticas necesitan para su desarrollo de vitaminas del grupo B y son capaces de producir otras vitaminas. Por lo tanto, las características del cultivo determinan las diferencias en el contenido vitamínico de la leche fermentada con respecto a la original. El contenido de vitaminas de las leches fermentadas, depende también de las condiciones de almacenamiento y, especialmente, del pre tratamiento que recibe la leche.
- c) Otros cambios debido a la acción bacteriana no tiene consecuencia nutricional.
- d) La composición puede modificarse en diversas etapas del proceso, con la estandarización y la ultrafiltración, y también por adición de leche en polvo desnatada, caseinatos, estabilizantes, aromatizantes o trozos de frutas.

#### **3.1.4.4. Aspectos nutritivos**

Walstra *et al.* (2001) indica los siguientes aspectos:

- a) Energía. El proceso de fermentación, no produce cambios importantes en el valor energético de la leche. La conversión de la lactosa en ácido láctico solo reduce éste valor en un porcentaje mínimo que se considera despreciable.

- b) Digestibilidad

Proteína y grasa. La proteína de las leches fermentadas se coagula en el estómago en forma de partículas más finas que la leche normal, lo que también mejora la digestibilidad. Los jugos gástricos de los bebés contienen poco ácido láctico (dextrorrotatorio) a las leches maternizadas.

Lactosa. Las personas con intolerante a la lactosa digieren un producto fermentado con el yogur mucho mejor que la leche normal. Esto se debe, aunque solamente en parte, al menor contenido de lactosa. Además, existen diversos factores que determinan la mejor digestión de la lactosa.



- c) **Modificación del pH.** El consumo de las leches fermentadas casi no aumenta el pH del contenido estomacal y, por tanto, disminuye el riesgo de supervivencia de patógenos. Este efecto es especialmente importante para las personas que segregan pocos jugos gástricos, como los bebés y muchos ancianos.
- d) **Acción antimicrobiana.** Las bacterias lácticas pueden formar compuestos con actividad antibiótica frente a patógenos *in vitro*. El papel de estas sustancias en la gastroenteritis *in vivo*, no está bien establecido.
- e) **Absorción de minerales.** Al bajo pH de las leches fermentadas, algunos minerales son más solubles que en la leche normal, y por ello, muchas veces se asume que los minerales se absorbe mejor. No obstante, la absorción de algunos elementos, especialmente del magnesio y del cinc, está favorecida por la presencia de lactosa, y como el contenido de lactosa disminuye durante la fermentación, la absorción neta a partir de la leche acidificada es menor.
- f) **Algunos otros efectos positivos y negativos**
- Flora intestinal.** Como al consumir leches fermentadas se están ingiriendo bacterias lácticas vivas, podría producirse la implantación de estas bacterias en el intestino grueso, lo que reducirá el desarrollo de patógenos.
- Niveles de colesterol.** Algunos ensayos en animales sugieren que el consumo de leches fermentadas puede contribuir a disminuir el colesterol sanguíneo y, por tanto, reducir el riesgo de enfermedades coronarias y vasculares. No obstante, aunque sea cierto, parece que el efecto es muy pequeño. El consumo de leches fermentadas podría también contribuir a aumentar la resistencia frente a los patógenos por activación del sistema inmune, reduciendo además el riesgo de cáncer de colon. Sin embargo, estos efectos beneficiosos no se han demostrado en humanos.
- Caries dentales.** Las leches fermentadas no producen caries ya que, a pesar de su bajo pH, no dañan el esmalte. Las bacterias lácticas de la flora bucal no sintetizan dextranos pegajosos a partir de la lactosa (si lo hacen a partir de la sacarosa) y, por lo tanto, no

forman placa dental. Obviamente, la saliva presenta una buena actividad protectora frente a las caries dentales.

### **3.1.5. CLASIFICACIÓN DE LAS LECHES FERMENTADAS**

Según Walstra et. al. (2001) las leches fermentadas pueden clasificarse en función de muchos criterios, en los que se pueden citar el tipo de proceso fermentativo, su contenido graso, la concentración de la leche, la separación del suero, y la utilización de la leche procedente de distintas especies

#### **3.1.5.1. Tipo de fermentación**

En esta clasificación se pueden distinguir los siguientes productos:

- a) Productos con una fermentación láctica pura. En los que la fermentación puede ser llevada a cabo, por:
  - Cultivos indicadores mesófilos: *Lactococcus* ssp. *Cremonis* o ssp. *lactis*, *Leuconostoc cremoris* y/o *Lactococcus lactis* ssp. *Lactis* biovar. *Diacetylactis*. Productos de este tipo son, por ejemplo, la leche acidificada, el ymer, el langfil y el viili.
  - Cultivos indicadores termófilos, constituidos por:
    - Una flora protooperativa de *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus*, que es la utilizada en el yogur.
    - Un cultivo puro de *Lactobacillus acidophilus*, que se utiliza para la elaboración de la leche acidófila; o bien una flora compuesta por este microorganismo y/o *Bifidobacterium bifidum* en combinación con los microorganismos del yogur, que se utiliza para la elaboración de productos tipo yogur.
- b) Leches fermentadas en las que se combina una fermentación láctica con la producción de alcohol, por ejemplo, el kéfir y el kumis.

#### **3.1.5.2. Contenido graso**

Walstra et. al. (2001), las distintas variedades de leches fermentadas presentan considerables diferencias en su contenido graso, y también existen variaciones entre productos del mismo tipo. Como ejemplos, se

puede citar la leche acidificada, la mazada fermentada y productos similares, y la nata ácida.

- a) La leche acidificada, se obtiene por producción de ácido en leche entera o desnatada sembrada con un estárter de tipo D e incubada a 20°C. su contenido graso varía ampliamente, y también el porcentaje de ácido láctico (0,5 – 1,5%).
- b) La mazada fermentada, se obtiene en el batido de la nata fermentada para la fabricación de mantequilla. Los productos similares (mazada acidificada o leche desnatada acidificada) se obtiene por acidificación a 20°C con un estárter aromatizante L o DL. Algunas veces, se exige que la leche utilizada en la elaboración de la mazada acidificada tenga un contenido graso mínimo, por ejemplo, del 0,4%.
- c) La nata ácida, se somete a un tratamiento de pasteurización alta. Es un producto que contiene entre un 18% y un 20% de grasa, que se homogeneiza (preferiblemente a bajas temperaturas para favorecer la formación de grumos de homogeneización, se siembra con un cultivo aromatizante y se incuba a 20°C. Durante la acidificación, los grumos de homogeneización floculan y se obtiene una nata muy viscosa. Con el fin de aumentar la consistencia del producto, algunas veces se añade cuajo y/o agentes espesantes a la nata dulce. Cuando el pH desciende hasta 4,5, la nata se agita suavemente mientras se enfría y después se envasa. Walstra et al. (2001).

#### **3.1.5.3. Concentración de la leche**

Para la elaboración del yogur concentrado se parte de leche evaporada. De esta forma, la excesiva producción de ácido altera menos el aroma porque la capacidad tamponante del producto concentrado es mayor. Walstra et al. (2001).

#### **3.1.5.4. Separación del suero**

En otro método para la obtención de leches concentradas; por este sistema se fabrica, por ejemplo, el ymer.

El ymer es una bebida láctea acidificada de Dinamarca. La leche se somete a una pasteurización alta y se acidifica a pH 4,6 sembrando un

estárter aromatizante; la leche fermentada se calienta gradualmente hasta 35°C, y parte del suero se separa. El CO<sub>2</sub> que se forma hace flotar la cuajada. El lactosuero se retira, a la cuajada se le añade nata homogenizada, y la mezcla se agita, se refrigera y se envasa. Walstra et al. (2001).

### 3.1.6. BEBIDA DE KÉFIR

Comúnmente se conocen tres tipos de kéfir: de leche, de agua y de té. El más extendido es el kéfir de leche que son producidos por los gránulos que reciben el mismo nombre de kéfir.. (Baltes, 2007, p. 347).

#### **Kéfir de leche**

El kéfir es una bebida ligeramente espumosa que contiene un poco de alcohol y un poco de CO<sub>2</sub>; este producto está elaborado a partir de leche a la que se le añaden cultivos de kéfir. El bacilo de kéfir envuelve y cubre otros microorganismos y provoca la formación de grumos de kéfir parecidos a la de la coliflor. (Baltes, 2007, p. 347).

Los microorganismos responsables de la fermentación son *Saccharomyces kéfir*, una levadura láctica que produce alcohol y bióxido de carbono, y las bacterias lácticas *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris* y *Lactobacillus caucasicus*, Tabla (3). Estos gérmenes forman los granos amarillentos con los cuales se prepara el kéfir. Este producto también se elabora a partir de cultivos puros (SEP, 2006).

El kéfir es una leche fermentada con levaduras *Tórula kefir* Y *Saccharomyes kéfir* conjuntamente con bacterias *Lactobacillus caucasicum* y *Streptococcus lactis*. Mientras las bacterias fermentan la lactosa de la leche formando ácido láctico, las levaduras producen alcohol y anhídrido carbónico. La incubación se hace a unos 23° C durante un periodo de veinte horas. (Madrid y Madrid, 2001, p.145).

**Tabla 3.** Principales grupos de bacterias lácticas y levaduras presentes en el kéfir

GÉNERO	ESPECIE FRECUENTE	MÁS	CARACTERÍSTICAS
LACTOBACILOS	<i>Ld. Brevis, Lb. Kéfir</i>		Heterofermentativos, predominantes en las leches fermentadas.
	Lb. Casei, Paracasei Paracasei, Platarum, Lb. acidophilus, Delbrueckii Bulgaricus, kefiranofaciens	Lb. sp. Lb. Lb. sp. Lb,	Predomina en los granos de kéfir
LACTOCOCOS	Lc. Lactis sp. Lactis, Lc. Lactis sp. Lactis biovar diacetylactis, Lc. Lactis sp. Cremoris		Acidifica rápidamente durante las primeras horas de fermentación.
	S. thermophilus		
STREPTOCOCOS			Raramente encontrado.
	Ln. Mesenteroides sp.		
LEUCONOSTOC	Mesenteroides, Mesenteroides Dextranicum, Mesenteroides Cremoris, Ln.lactis	Ln. sp. Ln. sp.	Contribuye al sabor del kéfir.
	Acetobacter	aceti,	
ACETOBACTER	acetobacter rasaen		Su rol principal es mantener en simbiosis la microflora de los granos del kéfir. Incrementa la viscosidad del kéfir.

**Continuación tabla 3. Principales grupos de bacterias lácticas y levaduras presentes en el kéfir**

LEVADURAS	Saccharomyces cerevisiae	Levaduras no fermentadas de la lactosa, que producen alcohol y CO <sub>2</sub> a partir de glucosa.
	Candida kéfir	Levaduras fermentadas de la lactosa. Responsables de
	Kluyveromyces marxianus var. Marxianus	formación de CO <sub>2</sub> y contribuyendo al característico sabor y aroma.

**Fuente:** Bautista, (2010)

### 3.1.7. GRÁNULOS DE KÉFIR

Los granos del kéfir son racimos de los microorganismos ligados por una matriz de polisacáridos. Los granos incluyen sobre todo las bacterias del ácido láctico y las levaduras, así como bacterias del ácido acético y posiblemente otros microorganismos. Los granos contienen un equilibrio relativamente estable y específico de los microorganismos que existen en un lazo simbiótico complejo. Figura (1). (Bolaños y Jiménez, 2014, p.15).

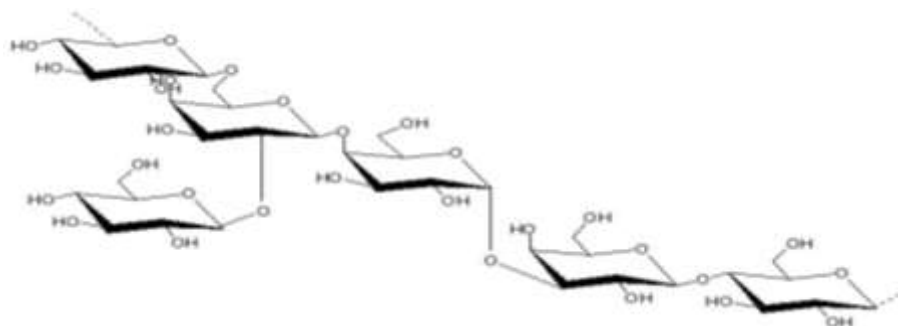


**Figura 1.** Gránulos de kéfir

**Fuente:** Bolaños y Jiménez (2014).

### 3.1.8. KEFIRAN

Kefiran se produce en el centro del grano, sintetizado por el microorganismo kefiranofaciens. Este Lactobacilo particular se encapsula dentro y en el centro del grano dónde las condiciones anaerobicas son favorables para la síntesis del Kefiran en la presencia de alcohol etílico (etanol). (Garcia y Hernandez, 2015).



**Figura 2.** Estructura del kefiran  
**Fuente:** Garcia y Hernandez (2015).

### 3.1.9. PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS

Debe cumplir un documento normativo que proporciona recomendaciones o pautas obligatorias, para garantizar su aptitud para el uso, Tabla (4). Las normas de producto pueden incluir directamente o mediante referencia elementos relativos a terminología, muestreo, ensayo, empaque y rotulado y a veces, requisitos de procedimientos.. (Días, 2007).

**Tabla 4.** Requisitos fisicoquímicos del kéfir

Compuesto	Cantidad
Valor de pH	4.0 – 4.5
Materia grasa	3.5g/100g
Proteína	3 – 3.4g/100g
Lactosa	2 – 3.5g/100g
Ácido láctico	0.6 – 1%
Ácidos orgánicos	Fórmico, succínico, caproico, caprilico, laúrico.
Etanol	0.5 – 2%
CO <sub>2</sub>	0.08 – 0.2% p/p
Vitaminas	Tiamina, piridoxina, ácido fólico.
Compuestos aromáticos	Acetaldehído, diacetilo, acetona.

**Fuente:** Bautista, (2010)

### 3.1.10. PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS

La mayoría de los productos lácteos consumidos deben de satisfacer cierta normativa legal, Tabla (5). Estas regularizaciones incluyen normas bacteriológicas para el producto y especifican niveles de operaciones que se consideran importante para satisfacer exigencias bacteriológicas y de otros tipos. (Robinson, 1987, p. 152).

**Tabla 5.** *Requisitos microbiológicos de las leches fermentadas*

<b>Requisitos microbiológicos</b>	<b>Leche fermentada con gránulos de kéfir</b>
Recuento de hongos	Max. $8 \leq 100$ UFC/g
Recuento de levaduras	Min. $10^4$ UFC/g
Recuento de coliformes totales	Max. $\leq 100$ UFC/g

**Fuente:** Técnica Cubana NC-TS 457:2007

### 3.1.11. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL KÉFIR

La composición de la leche fermentada con gránulos de kéfir depende en gran medida del tipo de leche que se fermenta. Sin embargo, durante la fermentación, se ha demostrado que se producen cambios en la composición de proteínas, vitaminas, carbohidratos, sales minerales y otros componentes, Tabla (6). El ácido L (+) láctico es el ácido orgánico en mayor concentración después de la fermentación y se deriva de aproximadamente el 25% de la lactosa original del volumen inicial de leche. Los aminoácidos valina, leucina, lisina y serina se forman durante la fermentación, mientras que las cantidades de alanina y ácido aspártico aumentan en comparación con las que contiene la leche cruda. También hay presencia de ácido acético. Estudios muestran que cantidades apreciables de piridoxina, vitamina B12, ácido fólico y biotina se sintetizaron en la producción de kéfir, dependiendo del país de donde provengan los gránulos de kéfir utilizado, mientras que la tiamina y los niveles de riboflavina se redujeron. (Santos y Vega, 2012).



**Tabla 6. Composición química del kéfir y leche**

<b>En 100 g:</b>	
	kéfir*
Kcal	61
Proteínas	3,3 g
Lípidos	3,3 g
Glúcidos	4 g
Colesterol	11 mg
Sodio	48 mg
Potasio	157 mg
Calcio	120 mg
Fosforo	92 mg
Magnesio	12 mg
Hierro	0,1 mg
Vitamina A	31 mg
Vitamina B1	0,03 mg
Vitamina B2	0,18 mg
Vitamina B3	0,1 mg
Vitamina B6	0,05 mg
Vitamina C	1 mg
Vitamina E	0,1 mg
Alcohol	0.5%
CO2	

**Fuente:** Sagredo, (2007)

\*Referente a la bebida fermentada

### 3.1.12. CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS

El análisis sensorial constituye una valiosa herramienta que, en conjunto con evaluaciones fisicoquímicas y microbiológicas, forma parte del control de calidad de los productos alimentarios y permiten la determinación de la vida en anaquel, los cambios generados por modificaciones en formulación, la evaluación de las características de nuevos productos, la comparación entre diferentes alimentos y la aceptación por parte de los consumidores. Es llevado a cabo por personas que evalúan, a través de los sentidos, alguno o todos los atributos relacionados con la apariencia, textura, olor y sabor, según sea el objetivo del estudio. Al conjunto de personas que desempeñan dicha labor se les denomina panel, jueces o evaluadores sensoriales. Existe juez experto, entrenado, semi entrenado y consumidor. Los jueces semi entrenados son personas que han recibido un entrenamiento teórico similar al de los jueces entrenados, que realizan pruebas sensoriales con frecuencia y posee suficiente habilidad, pero que generalmente participan en pruebas discriminativas sencillas, las cuales no

requieren de una definición muy precisa de términos o escalas. (Zuluaga, 2017, p. 34)

Pruebas de Perfil sensorial y cuantitativo descriptivo es un conjunto de pruebas que son utilizadas para evaluar, de manera reproducible, las propiedades sensoriales de un producto. A cada uno de los atributos que forman parte de la impresión sensorial completa del alimento, se le asigna un puntaje en una escala de intensidad definida por el evaluador y los resultados permiten la determinación del perfil sensorial. En su elaboración se incluyen aspectos relacionados con características de olor, textura y sabor. Las pruebas descriptivas cuantitativas son ampliamente utilizadas debido a que son una herramienta para el desarrollo de nuevos productos, permite establecer la naturaleza de las diferencias entre productos, constituye una alternativa para el control de calidad y suministra datos sensoriales que pueden correlacionarse con datos instrumentales y con información del consumidor. (Zuluaga, 2017, p. 76)

- **Análisis del consumidor.** Se suele denominar también test hedónico y se trata de evaluar si el producto agrada o no, las pruebas deben ser lo más espontáneas posibles. (Bautista, 2010)
- Según la Especificación Técnica Cubana. Oficina Nacional de Normalización NC-TS 457:2007 un análisis hedónico al kéfir (bebida funcional) debe de cumplir con:
  - **Aspecto.** Color uniforme, blanco si es natural. En la leche aromatizada el color será típico al sabor que representa. Homogéneo.
  - **Olor.** Típico de un producto lácteo fermentado. En la leche fermentada aromatizada, típico al aromatizante natural o artificial y a producto lácteo fermentado.
  - **Sabor.** Típico a producto lácteo fermentado. En la leche fermentada aromatizada, típico al aromatizante natural o artificial y a producto lácteo fermentado. Acidez de muy ligera a moderada en dependencia del tipo de leche fermentada. Dulzor de muy ligero a moderado en dependencia del tipo de leche fermentada.

- **Textura. Consistencia viscosa.** Cremosa. La leche fermentada coagulada en el envase presentará coágulo firme. Grumosidad de ligera a moderada en dependencia del tipo de leche fermentada.

### 3.1.13. PRESERVACIÓN DE LOS GRÁNULOS DE KÉFIR

Los gránulos se almacenan a 4 °C, así pierde su actividad. También se pueden secar a temperatura ambiente durante 48 horas. Los granos secos envueltos en aluminio se conservan durante 12 meses a 16 °C. Para reactivarlos, se debe macerar los granos en agua hervida durante seis horas y, luego, en leche pasteurizada durante 24 horas. (SEP, 2006).

## 3.2. MARCO CONCEPTUAL

**Temperatura.** Es una propiedad de los cuerpos, que no se puede disociar de la materia tangible. La temperatura es una medida de la capacidad de emitir calor, o sea que cuanto, más caliente está un objeto (o lo que es lo mismo, cuanto mayor sea su temperatura) mayor es su capacidad de intercambiar calor con el medio que lo rodea, siempre que la temperatura del medio sea distinta. (Rodríguez, 1990, p.3).

**Granos de kéfir.** Son blancos, pequeños, de unos 2-15 mm de diámetro, cuyas superficies están muy contorsionadas, están compuestos por una mezcla de microorganismos cuyo agrupamiento da lugar a un modelo altamente organizado; así sus capas periféricas están formadas por varias bacterias bacilares, pero hacia el centro son las levaduras los componentes más importantes de la microflora. Lo que se desconoce es como se forman estas unidades. (Robinson, 1987, p. 245).

**Bebida funcional.** Contienen componentes fisiológicos que complementan el aporte nutricional y que suponen un beneficio añadido para la salud. (Munuera, 2010, p. 414).

**pH.** El pH representa la concentración de iones hidrógeno de una solución y se puede definir matemáticamente como el logaritmo del inverso de la concentración de iones hidrógeno [H<sup>+</sup>]. (Jubet, 2016, p. 169).

**Porcentaje de alcohol.** La proporción de alcohol que contiene una bebida, se puede expresar en grados alcohólicos según Gay-Lussac o en porcentajes. (Briceño y Castro, 2015).

**Composición proximal.** Se denomina análisis proximal al conjunto de métodos que determinan la composición en términos nutricionales un alimento. Hace referencia al contenido de sustancias nutritivas de un alimento. Muñoz et al. (2014).

**Conteo de coliformes.** Estima el número de bacterias del tipo coliformes existentes en la muestra, que generalmente tienen origen en la contaminación del entorno. (Jubet, 2016, p. 170).

**Hongos filamentosos (mohos):** El tallos de los hongos filamentosos largos de células unidas; estos filamentos, que se denominan hifas, pueden crecer hasta proporciones inmensas. Tortora, Funke y Case (2007).

**Levaduras:** Se denomina levadura o fermento a los diversos organismos eucariotas, ya sean ascomicetos o basidiomicetos microscópicos, con forma unicelular predominante en su ciclo de vida. Las levaduras son importantes por su capacidad para realizar la descomposición mediante fermentación (predominantemente alcohólica) de diversos compuestos orgánicos, principalmente los azúcares o hidratos de carbono, produciendo distintas sustancias. Tortora et al. (2007).

## CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

### 4.1. LUGAR DE EJECUCIÓN

La investigación se desarrolló en dos lugares: la primera en la Universidad Nacional José María Arguedas, Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, en los laboratorios de Industrias Lácteas donde se elaboró la bebida funcional, Control de calidad donde se midió el pH de las muestras, Biotecnología se analizó las características microbiológicas y Química se determinó el porcentaje de alcohol, estos laboratorios se encuentran ubicados en el distrito de Talavera, provincia de Andahuaylas, región Apurímac. La segunda se realizó en la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, en el Laboratorio de Análisis Químico por concepto de prestación de servicios, donde se determinó la composición proximal de la muestra T3, dicho laboratorio está ubicado en el distrito de Wanchaq, provincia de Cusco, región Cusco.

### 4.2. MATERIALES, INSTRUMENTOS Y EQUIPOS

#### a) Materia Prima

**Leche.** La leche de vaca fue recolectada del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) – Estación de Chumbibamba. Extraídas mediante un ordeño automatizado.

**Gránulos de kéfir.** Estos gránulos fueron adquiridos de la corporación BONSAI, ubicada en el distrito de Wanchaq, provincia de Cusco del departamento de Cusco, la biomasa de dichos gránulos fueron reproducidos en el laboratorio de industrias lácteas de la Universidad Nacional José María Arguedas, realizando diversas fermentaciones, hasta obtener la cantidad adecuada.

#### b) Equipos e instrumentos

En la Tabla (7) se muestran los equipos e instrumentos que fueron usados.

**Tabla 7.** *Lista de equipos e instrumentos*

<b>CANTIDAD</b>	<b>EQUIPOS E INSUMOS</b>
01	Potenciómetro
01	Incubadora
01	Refrigeradora
01	Cámara fotográfica
01	Balanza digital de sensibilidad 0.01g
01	Balanza electrónica digital Cap. máxima de 30 Kg., y mínima de 200 g.
01	Cocina industrial
01	Cocina eléctrica

**c) Materiales**

En la Tabla (8) se muestran los materiales que fueron usados.

**Tabla 8.** *Lista de materiales*

<b>CANTIDAD</b>	<b>MATERIALES</b>
01	Lactodensímetro
03	Probeta de 250 mL
05	Probeta de 100 mL
03	Jarra graduada
15	Tubo de ensayo con tapa
03	Gradillas
81	Placas Petri
30	Vaso precipitado 100 y 250 mL
04	Gotero
03	Tela filtro
10	Recipientes de plástico
05	Olla
03	Cucharon de madera
04	Pipeta
02	Pro pipeta
09	Varilla de vidrio
30	Cintas de pH
10	Envases de 1 L para almacenar
02	Matraz Erlenmeyer

**Continuación Tabla 8.** Se muestran los materiales que fueron usados.

<b>CANTIDAD</b>	<b>MATERIALES</b>
04	Paquete papel toalla
02	Espátula de acero inoxidable mango de madera
01	Pizetas.
01	Rotulador
03	Papel parafilm

**d) Reactivos e insumos**

En la Tabla (9) se muestran los reactivos que fueron usados.

**Tabla 9.** *Lista de reactivos e insumos de laboratorio*

<b>REACTIVOS INSUMOS</b>	<b>/ CANTIDAD</b>	<b>UNIDAD MEDIDA</b>
Alcohol 96°	50	mL
Fenoltaleina	5	mL
NaOH	5	mL
Agua destilada	15	L
Azul de metileno	10	mL
Agar VRBA	780	mL
Agua peptonada	100	mL
Agar papa dextrosa	400	mL
Ácido tartárico	5.6	mL

**e) Recursos no disponibles**

En la Tabla (10) se muestran los recursos no disponibles que fueron usados.

**Tabla 10.** *Lista de recursos no disponibles*

<b>CANTIDAD</b>	<b>Unidad de medida</b>	<b>MATERIA PRIMA</b>
30	L	Leche
1050	g	Cepas de kéfir

#### **4.3. POBLACIÓN Y MUESTRA**

**Población.** Se consideró como población a la bebida funcional sometida a diferentes tratamientos. Obteniéndose una cantidad finita de 9 L.

**Muestreo.** Se realizó un muestreo no probabilístico por juicio, debido a que la población a evaluar era reducida, de los nueve tratamientos se obtuvieron 1 litro de muestra correspondiente a cada tratamiento, las cuales fueron evaluadas en los laboratorios especializados de la Universidad Nacional José María Arguedas. Las muestras de investigación fueron seleccionadas basándose únicamente en el conocimiento y la credibilidad del investigador, es decir, el investigador eligió solo a aquellos que este creía que eran los adecuados para ser analizados.

**Unidad de análisis.** La cantidad de muestra requerida por cada tratamiento fueron 820 mL de muestra las cuales fueron repartidas de la siguiente manera: 300 mL para el análisis de porcentaje de alcohol, 30 mL para medir el pH, 10 mL para recuento de coliformes totales, hongos y levaduras, 480 mL para el análisis de características organolépticas. Dicha cantidad requerida fue promediada a 1 L de muestra, ya que en el proceso aún se podía requerir.

#### **4.4. TIPO DE INVESTIGACIÓN**

##### **De acuerdo al fin que persigue**

Aplicada. Se quiere lograr nuevos conocimientos, que permitan la solución de problemas prácticos.

##### **De acuerdo a la técnica de contrastación**

Experimental. Los datos son obtenidos de fenómenos condicionados por el investigador.

##### **Régimen de investigación**

Orientada. Innovación de productos y procesos en la port producción. Ya que el tema de estudio forma parte de los planes o líneas de investigación de la Universidad Nacional José María Arguedas.



#### 4.5. ANÁLISIS PRELIMINAR A LA MATERIA PRIMA

Para garantizar la calidad del producto final se realizaron análisis preliminares a la materia prima (leche) además, se llevó a cabo la producción y adaptación de los gránulos de kéfir para su posterior uso. Los datos obtenidos de estos análisis se reportan en el Anexo (1).

##### **Densidad**

La medición de la densidad de la leche se efectuó mediante un lactodensímetro calibrado a una temperatura de 20°C. La densidad varía con la temperatura por lo que, cuando se hace la medición del valor observado debe corregirse en función de una temperatura. (Jubert, 2016, p. 415).

Se sumergió suavemente el lactodensímetro dentro de la probeta que contenía leche, hasta que esté cerca de su posición de equilibrio se le imprimió un ligero movimiento de rotación para impedir que se adhiriera a las paredes de la probeta. Durante la inmersión debe desbordarse la leche de tal manera que la zona de lectura del lactodensímetro quede por encima del plano superior de la probeta.

Se tomaron los datos cuando el lactodensímetro estuvo quieto, y se reemplazaron en la fórmula.

$$\rho_{20} = \rho \pm 0,0002(T - 20) \dots \text{Ec. (01)}$$

Donde:

$\rho_{20}$  = densidad relativa a 20/20°C

$\rho$  = densidad aparente a T°C

T = temperatura de la muestra durante la determinación, en °C

##### **Prueba de alcohol**

Se mezclaron en un tubo de ensayo con tapa 2 ml de leche y 2 ml de alcohol de 96°. Una vez mezclados los líquidos, se examinó el resultado. Si no se observan coágulos en la pared del tubo de ensayo se consideró que la leche va a ser estable a la temperatura del tratamiento térmico ensayado, que se corresponde con el grado de la solución alcohólica empleada. Por el contrario, la aparición de coágulos indica la inestabilidad de la leche para este tratamiento. (Jubert, 2016, p. 418).

### **Determinación de pH**

Para medir el nivel de pH se siguió el método 981.12 de la AOAC (1999).

Se utilizó la medición a 25°C o temperatura ambiente, utilizando un potenciómetro, el cual se calibrará usando buffers de pH 4 y 7.

Se tomó el pH al líquido sumergiendo el electrodo directamente en la leche.

### **Determinación de acidez titulable**

Se realizó por el método de la Asociación de los químicos analíticos oficiales (AOAC, 2005) Método 942.15.

Se determinó volumétricamente operando sobre 9 g de leche en 10 ml de agua. Como indicador se empleó 0,5 mL de Fenolftaleína solución 1% RE (se dio por terminada la valoración cuando apareció una coloración rosa fácilmente perceptible por comparación con un testigo tomado de la misma leche). Los datos obtenidos se reemplazaron en la fórmula.

$$\% \text{ de acidez} = \frac{(N * Meq * 0.09)}{mg} \times 100 \dots Ec. (02)$$

Donde:

$N$  = Normalidad del NaOH

$Meq$  = Peso mili equivalente del ácido predominante (ácido Láctico = 90,08 g/mol).

$mg$  = Peso de la muestra en g.

$V$  = Volumen en mililitros del Alkali utilizado.

### **Determinación de sólidos totales**

El método indirecto se efectuó mediante la relación entre la densidad de la leche y su contenido de grasa. Con estos dos valores se aplicaron en la siguiente fórmula.

Richmond

$$\%S.T. = (0,25 * \rho) + (1,21*\%G) + 0,66\dots Ec. (03)$$

Donde:

$\rho$  = densidad

G= grasa

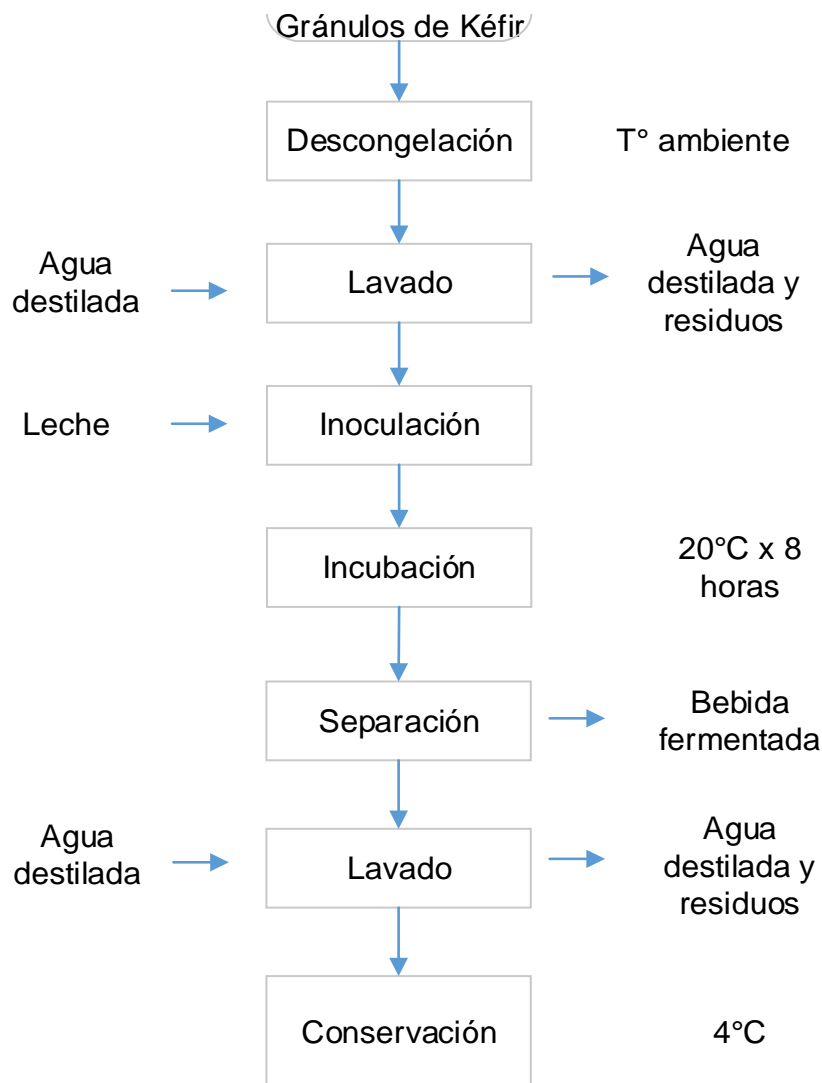
#### 4.5.1. Producción inicial de gránulos de kéfir a nivel de laboratorio

Las operaciones para la producción inicial de gránulos de kéfir fueron tomados como referencia del procedimiento seguido por García y Hernández (2015), con algunas modificaciones, referente a la temperatura y tiempo de incubación, Figura (3), se desarrollan a continuación.

Los gránulos de kéfir fueron almacenados a una temperatura de 4°C, posterior a esto se realizó el siguiente procedimiento:

- **Descongelación.** Se descongelaron a temperatura ambiente.
- **Lavado.** Se realizó con agua destilada.
- **Inoculación.** Utilizando una relación 1:10, se inoculó los gránulos de kéfir en leche pasteurizada usando un recipiente de vidrio de capacidad adecuada.
- **Incubación.** Se tapó el recipiente de vidrio con papel filtro o filtro de tela, y se incubó a 20°C durante 8 horas.
- **Separación.** Transcurridas las 8 horas de fermentación se separó los gránulos de kéfir de la leche fermentada con ayuda de un filtro de tela.
- **Lavado.** Se lavó con agua destilada.
- **Conservación.** kéfir fueron almacenados a una temperatura de 4°C.

Los gránulos obtenidos fueron inoculados nuevamente en un volumen adecuado de leche pasteurizada, guardando siempre la relación 1:10. El proceso anterior se realizó durante dos semanas consecutivas hasta obtener los 1050 g de gránulos de kéfir para continuar con los procedimientos.



**Figura 3.** Diagrama de flujo obtención de gránulos de kéfir

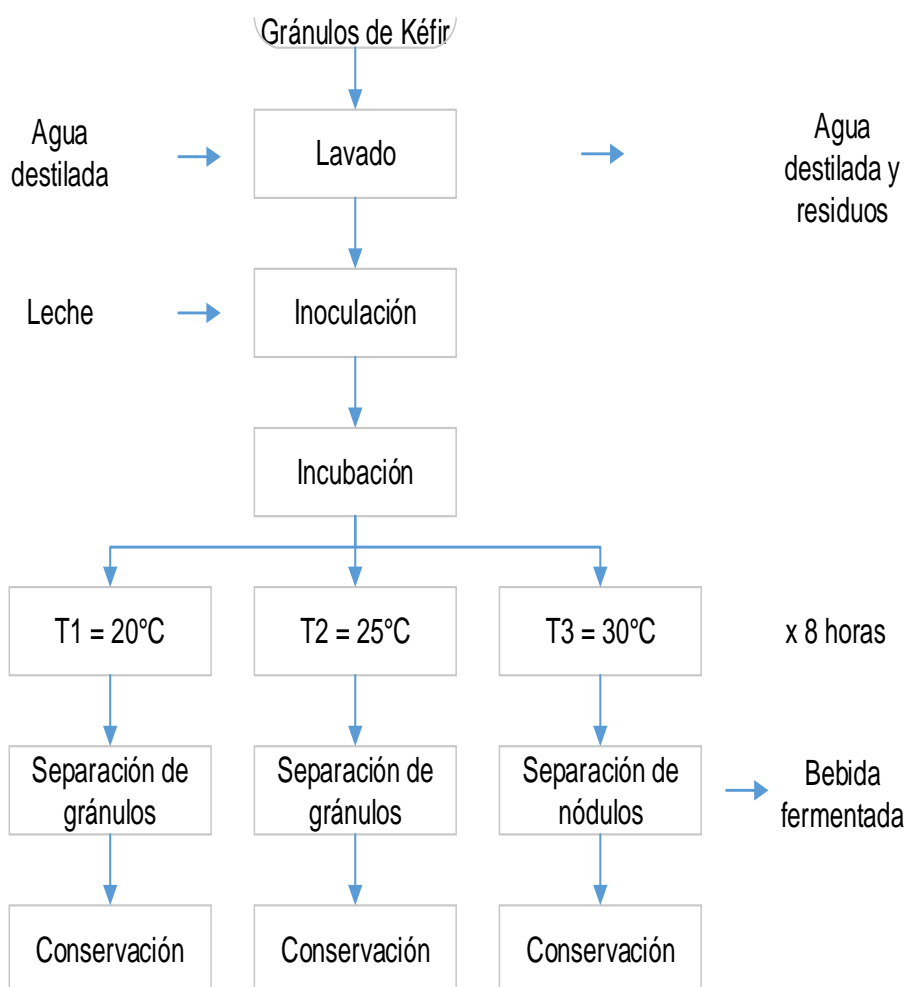
#### 4.5.2. Adaptación de los gránulos de kéfir

Las operaciones para la adaptación de gránulos de kéfir fue tomado como referencia del procedimiento seguido por García y Hernández (2015), con algunas modificaciones, referente a las temperaturas y tiempo de incubación, Figura (4), se desarrollan a continuación.

La biomasa total de gránulos de kéfir (1050 g) obtenida fue dividida en tres porciones de igual peso (350 g por muestra) en cada una de ellas se realizó el siguiente procedimiento:

- **Lavado.** Se separó los gránulos de kéfir del líquido (leche pasteurizada) en el que se encontraban, se lavó con agua destilada y se escurrió.

- **Inoculación.** Utilizando una relación 1:10, se inoculó los gránulos de kéfir en leche pasteurizada usando un recipiente de vidrio de capacidad adecuada.
- **Incubación.** Se tapó el recipiente de vidrio con papel filtro o filtro de tela, e incubó (una preparación a 20 °C, otra a 25 °C y otra a 30 °C), se incubaron por 8 horas.
- **Separación.** Transcurridas las 8 horas de fermentación se separó los gránulos de kéfir de la leche fermentada con ayuda de un filtro de tela.
- **Lavado.** Se lavó con agua destilada.
- **Conservación.** kéfir fueron almacenados a una temperatura de 4 °C.



**Figura 4.** Diagrama experimental para la adaptación de gránulos de kéfir

## 4.6. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

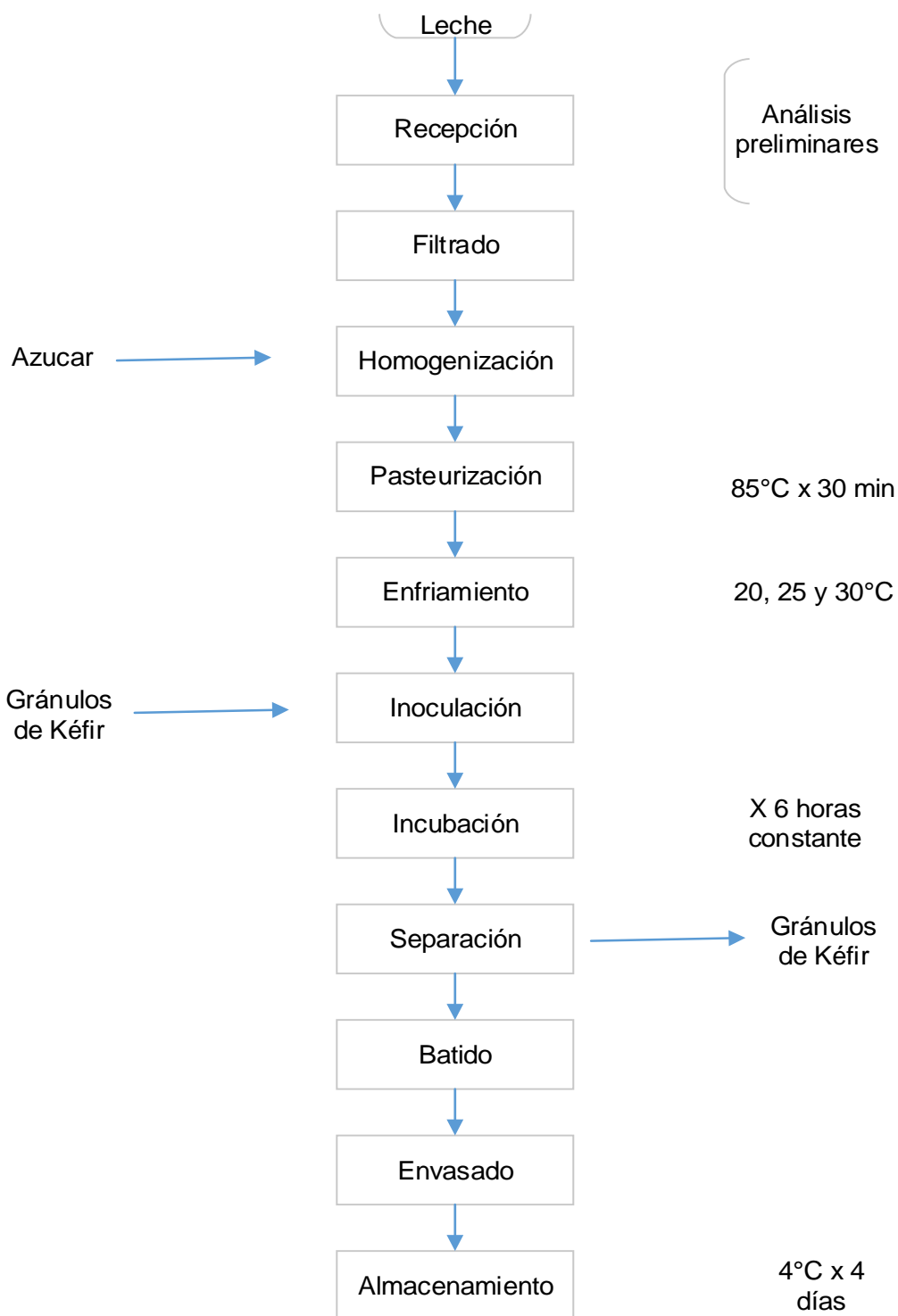
Antes de realizar los análisis correspondientes a la bebida funcional se procedió a su elaboración, la cual se detalla a continuación:

### 4.6.1. Elaboración de la bebida funcional

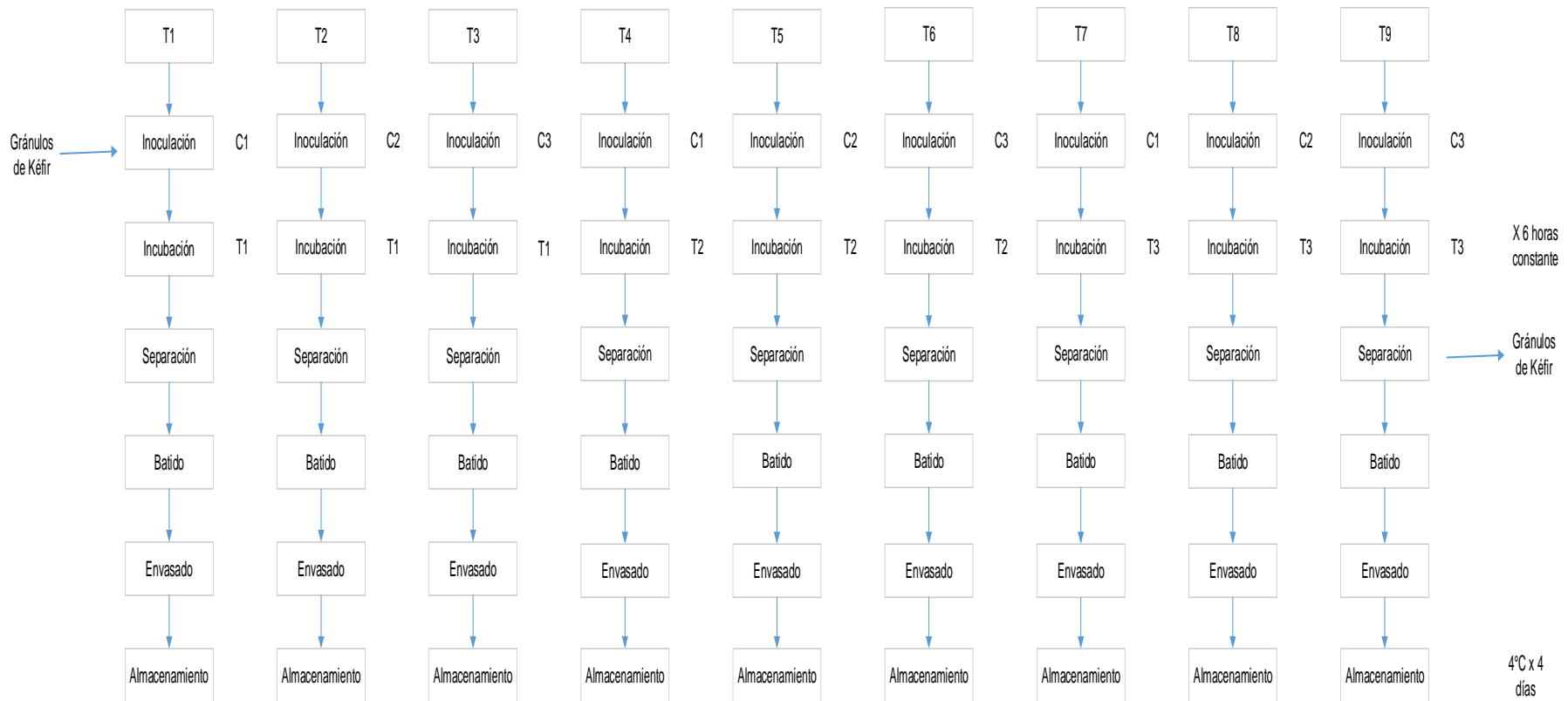
Las operaciones para la elaboración de kéfir fue tomado como referencia del procedimiento seguido por García y Hernández, 2015, con algunas modificaciones, referente al porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación, Figura (5), la interacción de los tratamientos se detallan en el Anexo (2).

- **Recepción.** La leche fue recepcionada en un envase de plástico previamente esterilizado, seguidamente se realizaron los análisis preliminares detallados en la página 29.
- **Filtrado.** Se realizó en telas filtro, con el fin de retener impurezas.
- **Hominización.** se le añadió azúcar blanca.
- **Pasteurización.** Se adicionó azúcar a la leche, seguidamente se elevó la temperatura hasta 85 °C manteniéndola por 30 minutos, logrando de esta manera eliminar los microorganismos patógenos y bajar la carga microbiana.
- **Enfriamiento.** La leche pasteurizada se dejó enfriar hasta 20, 25 y 30 °C respectivamente.
- **Inoculación.** Se agrega los porcentajes de gránulos de kéfir C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub> y C<sub>3</sub> correspondiente a cada tratamiento.
- **Incubación.** A temperaturas correspondientes a cada tratamiento, por 6 horas, a T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> y T<sub>3</sub>.
- **Separación de nódulos.** Transcurridas las 6 horas de incubación, los gránulos de kéfir se retiraron con cuidado, utilizando un filtro de tela para evitar que la bebida siga fermentando.
- **Batido.** Se batió vigorosamente hasta homogenizar completamente la bebida fermentada.
- **Envasado.** La bebida se colocó en envases de alta densidad, de un litro.
- **Almacenamiento.** A 4 °C por 4 días. Luego, se procedió a realizar los análisis de las características fisicoquímicas, microbiológicas y organolépticas.

Para comprender este proceso se desarrolló un diagrama de flujo para explicar mejor la operación de inoculación e incubación Figura (6), siendo este parte de la metodología experimental.



**Figura 5.** Diagrama de flujo de elaboración de Kéfir



**Figura 6.** Diagrama de metodología experimental por cada tratamiento



#### **4.6.2. Análisis de las características fisicoquímicas**

##### **Determinación del porcentaje de alcohol**

Se determinó por el método gravimétrico con modificaciones, a falta de equipos. Se tomaron 100 mL de muestra en un matraz, teniendo en cuenta el peso de este. Se calentó en una cocina eléctrica manteniendo la temperatura a 78 °C durante 30 minutos. Posterior a eso se pasó a pesar el matraz. Se registraron los datos Anexo (03), los cuales fueron reemplazadas en la formula. Lalinede y Moreno (2013).

$$\% \text{ Alcohol} = \frac{pi}{pf} \dots ec. (04)$$

Donde:

pi = Peso inicial

pf = Peso final

##### **Medición de pH**

Para medir el nivel de pH se siguió el método 981.12 de la AOAC, cuyo procedimiento está detallado en la página 30. Se reportan datos Anexo (4).

##### **Composición proximal**

Los análisis de composición proximal que se realizaron fueron los siguientes: Humedad, Proteína, Grasa, Ceniza, Carbohidratos y Acidez. Estos se desarrollaron en el Laboratorio de Análisis Químico de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco por concepto de servicio. Debido al alto costo, sólo se mandó a analizar la muestra del tratamiento ganador en el análisis de características organolépticas.

#### **4.6.3. Análisis de características microbiológicas**

##### **Recuento de coliformes totales**

El recuento de coliformes totales se hizo por el método de recuento en placa vertida propuesto por el BAM. Procedimiento:

- Se pipeteó 1 mL de la dilución  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$ , se colocaron en placas de petri estériles debidamente rotuladas.
- Se vertió 20 mL de agar VRBA, llevado a una temperatura de 45 °C, se mezcló y se dejar solidificar.

- Para prevenir el crecimiento en la superficie y la difusión de las colonias, se recubrieron las placas con 5 ml más de agar VRBA, y se dejaron solidificar.
- Se invirtieron las placas e incubaron a 32 °C durante 18 a 24 horas.
- Se reportaron las unidades de colonias presentes en casa placa.

#### **Recuento de hongos y levaduras**

- Se pipeteó 1 ml de la dilución  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$ , se colocaron en placas de petri estériles debidamente rotuladas.
  - Fueron Colocadas por triplicado en placas petri estériles.
  - Para lograr acidificar el agar papa dextrosa a un pH de 3.5, se adiciono por cada 100 ml de agar, 1.4 ml de ácido tartárico al 10 % esterilizando la solución a 121 °C durante 15 minutos.
  - Se vertió 20 ml agar papa dextrosa llevado a una temperatura de 45 °C, se mezcló y se dejar solidificar.
  - Se mezcló cuidadosamente el medio con seis movimientos de derecha a izquierda, se dejó que la mezcla en las placas Petri solidifique, dejándolas reposar sobre una superficie horizontal fría.
  - Se invirtió las placas e incubó a 25 °C.
  - Se contaron las placas después de 5 días de incubación.
  - Se informaron las unidades formadoras de colonias en Anexo (5).

#### **4.6.4. Análisis de características organolépticas**

Se utilizó la metodología utilizada por Zuluaga, 2017, con algunas modificaciones (se tuvo en cuenta solo 5 escalas). Se usó una ficha para determinar el grado de aceptabilidad Anexo (6). Para ello, la prueba fue realizada por un panel semi – entrenado, para esto se tuvo en cuenta que los panelistas fueran estudiantes de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial y que hayan llevado el curso de Control de Calidad, lo conformaron 30 personas de ambos sexos y en edades promedio entre los 18 – 30 años. La evaluación se realizó a los 4 días de almacenamiento, en horas de la mañana, que no sean cercanas a las horas a las de las comidas, en un ambiente iluminado, en unas cabinas acondicionadas, teniendo en cuenta que los panelistas no ingirieron ningún alimento antes

de realizar la prueba. Se reportaron los datos Anexo (7), Anexo (8), Anexo (9) y Anexo (10). Además se tiene que tener en cuenta que se usó una muestra patrón que fue una bebida fermentada (yogurt natural).

#### 4.7. DISEÑO EXPERIMENTAL

Para el presente proyecto de tesis se empleó el Diseño Factorial 3<sup>2</sup>. Desarrollando una investigación de acuerdo a las siguientes variables de estudio: Temperatura y Cantidad de gránulos de kéfir como variable independiente; las características fisicoquímicas, microbiológicas y organolépticas como variables dependientes Tabla (11).

**Tabla 11.** Matriz de diseño experimental

Variables de entrada			Variables de salida								
			Características								
			Fisicoquímicas			Microbiológicas			Organolépticas		
Trat	T (°C)	Gran %	% Al	pH	Col	Hon	Lev	Col	OI	Sab	Tex
T1	20	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T2	25	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T3	30	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T4	20	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T5	25	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T6	30	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T7	20	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T8	25	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T9	30	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- Debido al alto costo de análisis de composición proximal se mandó a analizar la muestra que obtuvo mayor aceptación en el análisis organoléptico, la cual fue reportada en la Tabla (12).

**Tabla 12.** Análisis de composición proximal para el T3

Análisis	Porcentaje (%)
Humedad	
Proteína	
Grasa	
Ceniza	
Carbohidratos	
Acides (Ac. Láctico)	

### a) Diseño factorial $3^2$

Este diseño consiste en  $3^2 = 9$  tratamientos diferentes, que correspondan a todas las posibles maneras en las que se pueden combinar dos factores en tres niveles de cada uno. Sean A y B los factores, cada uno con tres niveles, a los cuales se les suele llamar bajo, medio y alto.

### b) Análisis estadístico

El modelo estadístico para el diseño  $3^2$  se puede escribir considerando el efecto individual de cada factor y de la interacción entre ambos, y queda como sigue:

$$Y_{ijk} = \mu + \gamma_i + \delta_j + (\gamma\delta) + \varepsilon_{ijk} \dots \text{Ec. (05)}$$

Con  $i = 1, 2, 3; j=1, 2, 3; k=1, \dots, n$

Donde  $\gamma_i$  es el efecto del factor A en su nivel  $i$ ,  $\delta_j$  representa el efecto del factor B en su nivel  $j$ ,  $(\gamma\delta)$  es el efecto de interacción de ambos en los niveles  $ij$  y  $n$  es el número de repeticiones en cada tratamiento. En consecuencia, las hipótesis que se desean probar son:  $H : \gamma_i = 0$  (no hay efecto significativo del factor A sobre la variable de respuesta),  $H_o : \delta = 0$  (no hay efecto del factor b sobre la variable de respuesta) y  $H_o : (\gamma\delta) = 0$  (no hay efecto de interacción de los factores A y B sobre la variable de respuesta).

A continuación las siguientes hipótesis son para las fuentes de variabilidad lo que son los tratamientos y el error aleatorio.

### Hipótesis nula

- No hay efecto significativo del porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación que influyen en las características fisicoquímicas (% de alcohol, pH y composición proximal) de una bebida funcional.
- No hay efecto significativo del porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación que influyen en las características microbiológicas (coliformes totales, hongos y levaduras) de una bebida funcional.

- No hay efecto significativo del porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación que influyen en las características organolépticas (color, olor, sabor y textura) de una bebida funcional.

### Hipótesis alterna

- Hay efecto significativo del porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación que influyen en las características fisicoquímicas (% de alcohol, pH y composición proximal) de una bebida funcional.
- Hay efecto significativo del porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación que influyen en las características microbiológicas (coliformes totales, hongos y levaduras) de una bebida funcional.
- Hay efecto significativo del porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación que influyen en las características organolépticas (color, olor, sabor y textura) de una bebida funcional.

Estas hipótesis se probaran con el ANOVA; para ello, las sumas de cuadrados para los tres efectos incluidos en la ecuación (06) están dadas por:

SCA

$$SC_A = \sum_{i=1}^3 \frac{\gamma^2_i \dots}{3n} - \frac{\gamma^2}{n3^2}$$

$$SC_B = \sum_{j=1}^3 \frac{\gamma^2_j \dots}{3n} - \frac{\gamma^2}{n3^2}$$

$$SC_{AB} = \sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^3 \frac{\gamma^2_{ij} \dots}{n} - \frac{\gamma^2}{n3^2} - SC_A - SC_B \dots \text{Ec. (06)}$$

La suma de cuadrados total se obtiene con:

$$SC_T = \sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^3 \sum_{k=1}^n \gamma^2_{ijk} - \frac{\gamma^2}{n3^2} \dots \text{Ec. (07)}$$

Y el error aleatorio se calcula con la diferencia:

$$SC_A = SC_T - SC_{AB} - SC_A - SC_B \dots \text{Ec. (08)}$$

Los grados de libertad asociados con cada suma de cuadrados de esta última relación son, respectivamente:

$$3^2(n - 1) = (n3^2 - 1) - (3 - 1)(3 - 1) - (3 - 1) - (3 - 1)$$

El bosquejo del análisis de varianza para el diseño  $3^2$  se muestra en la tabla 13. Observe que este diseño también requiere de al menos dos repeticiones para que haya grados de libertad para el error. Nótese que las sumas de cuadrados de los efectos A y B tienen dos grados de libertad (número de niveles menos uno) y que los grados de libertad para la interacción AB se obtienen con el producto  $2 \times 2 = 4$ , si el valor- $p$  para un efecto es menor que 0.05, entonces se rechaza la correspondiente hipótesis nula y se concluye que tal fuente de variación afecta de manera significativa a la variable de respuesta.

**Tabla 13.** ANVA para el diseño  $3^2$

Fuente de variabilidad	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	$F_0$	valor- $p$
<b>A</b>	SC <sub>A</sub>	2	C <sub>MA</sub>	C <sub>MA</sub> /C <sub>ME</sub>	P(F>F <sub>0</sub> )
<b>B</b>	SC <sub>B</sub>	2	C <sub>MB</sub>	C <sub>MB</sub> /C <sub>ME</sub>	P(F>F <sub>0</sub> )
<b>AB</b>	SC <sub>AB</sub>	4	C <sub>MAB</sub>	C <sub>MAB</sub> /C <sub>ME</sub>	P(F>F <sub>0</sub> )
<b>Error</b>	SC <sub>E</sub>	$3^2(n-1)$	C <sub>ME</sub>		
<b>Total</b>	SCT	$n3^2-1$			

Fuente: Gutiérrez et al., (2012)

Si se encuentra diferencia significativa se hará una comparación de medias por el método de Tukey.

### c) Método de Tukey

Un método más conservador para comparar pares de medias de tratamientos es el método de Tukey, el cual consiste en comparar las diferencias entre las medias muestrales con el valor crítico dado por:

$$T\alpha = q\alpha(k, N - k) \sqrt{\frac{CM_E}{n_i}} \dots Ec. (09)$$

Donde CME es el cuadrado medio del error, n es el número de observaciones por tratamiento, k es el número de tratamientos, N-k es igual a los grados de libertad para el error,  $\alpha$  es el nivel de significancia prefijado y el estadístico  $q_{\alpha}(k, N-k)$  son puntos porcentuales de la distribución del rango estudentizado. Se declaran significativamente diferentes los pares de medias cuya diferencia muestral en valor absoluto sea mayor que  $T\alpha$ . El método de Tukey trabaja con un error  $\alpha$  muy cercano al declarado por el experimentador.

**d) Comparación de tratamientos con un control (Método de Dunnet)**

Una vez que se rechaza la  $H_0$  con el ANVA, en ocasiones uno de los k tratamientos a comparar es el llamado tratamiento de control y el interés fundamental es comparar los k-1 tratamientos restantes con dicho control. El tratamiento control se identifica de esa manera porque por sus características es un estándar de referencia contra el cual es importante comparar el resto de los tratamientos.

Por facilidad, denotaremos como tratamiento control al k-ésimo tratamiento. Hacer comparaciones con respecto al control implica probar las k-1 hipótesis dadas por:

$$H_0 : \mu_i = \mu_k$$

$$H_a : \mu_i \neq \mu_k$$

Vectores unitarios i y j

Con  $i = 1, 2, \dots, k - 1$ . La hipótesis nula se rechaza si:

$$|\bar{Y}_i - \bar{Y}_k| > D(k-1, l) \sqrt{CME \left( \frac{1}{n_i} + \frac{1}{n_k} \right)} \dots Ec. (10)$$

Para determinar el efecto en las características fisicoquímicas y microbiológicas los datos fueron analizados en el programa Statgraphics Centurión XVI, mientras que el análisis organoléptico fue analizado en Exel 2013 y Minitab 17.

## CAPÍTULO V: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1. CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS

Los resultados de las propiedades fisicoquímicas evaluadas a los 4 días de almacenamiento de la bebida funcional fueron: % de alcohol, pH y composición proximal.

#### 5.1.1. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE ALCOHOL

En la Tabla (14) se muestra el contenido porcentual de alcohol en los diferentes tratamientos de la bebida funcional.

**Tabla 14.** *Porcentaje de alcohol para la bebida funcional*

Tratamiento	Variables		% Alcohol		
	T°	% Gran	$\bar{x}$	$\pm$	S
T1	20	5	0.99	$\pm$	0.00
T2	20	10	0.99	$\pm$	0.00
T3	20	15	0.97	$\pm$	0.00
T4	25	5	0.98	$\pm$	0.01
T5	25	10	0.98	$\pm$	0.00
T6	25	15	0.98	$\pm$	0.00
T7	30	5	0.98	$\pm$	0.00
T8	30	10	0.98	$\pm$	0.00
T9	30	15	0.98	$\pm$	0.02

Donde  $\bar{x}$  es la media, S es la desviación estándar (Anexo 11).

En el Anexo (11), el ANVA indica que no existe efecto significativo entre los tratamientos, es decir, el valor-P > 0.05, es así que en la tabla (14), podemos ver que todos los tratamientos son homogéneos, lo que confirmaría que no existe diferencias estadísticamente significativas en el contenido de alcohol entre cualquier par de medias, este hecho es apreciable en la Figura (6).

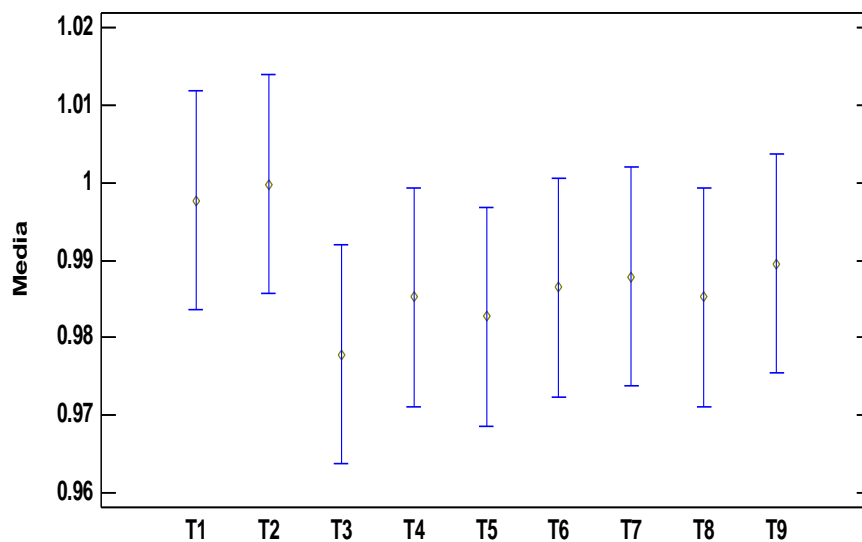
Gálvez, M. y Heras, M. (2012): en su investigación utiliza los siguientes porcentajes de gránulos de kéfir para incubación 5, 10 y 15 % a 27 °C temperatura de proceso, reportando como resultados lo siguientes niveles de alcohol: 0.86 %, 0.95 % y 0.95 % respectivamente, llegando a la conclusión de que no existe diferencia estadísticamente significativa entre dichos tratamientos. Siendo estos resultados similares a los obtenidos en esta investigación.



Al analizar los resultados y según la opinión de Alvarado (2018): en su investigación reporta un kéfir suave con un 1.05 % de alcohol, indicando que la mayoría de las bebidas fermentadas (kéfir) llegan a obtener el máximo nivel de producción de alcohol a las 24 horas de almacenado y que uno de los factores importantes para la producción de alcohol en bebidas fermentadas es la temperatura y el tiempo de fermentación, además del porcentaje de inóculo, esto se debe a que a mayor temperatura se logrará llegar más rápido a los niveles de producción de alcohol.

En la Figura (7) se puede observar claramente que todos los tratamientos se solapan o superponen. Finalmente se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alterna.

En la Figura (8), nos muestra que a mayor porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación, mayor es la obtención de alcohol.



**Figura 7.** Gráfica de Medias para el porcentaje de alcohol Evaluados a través del test de Tukey, para  $\alpha = 5 \%$  (Anexo 09)

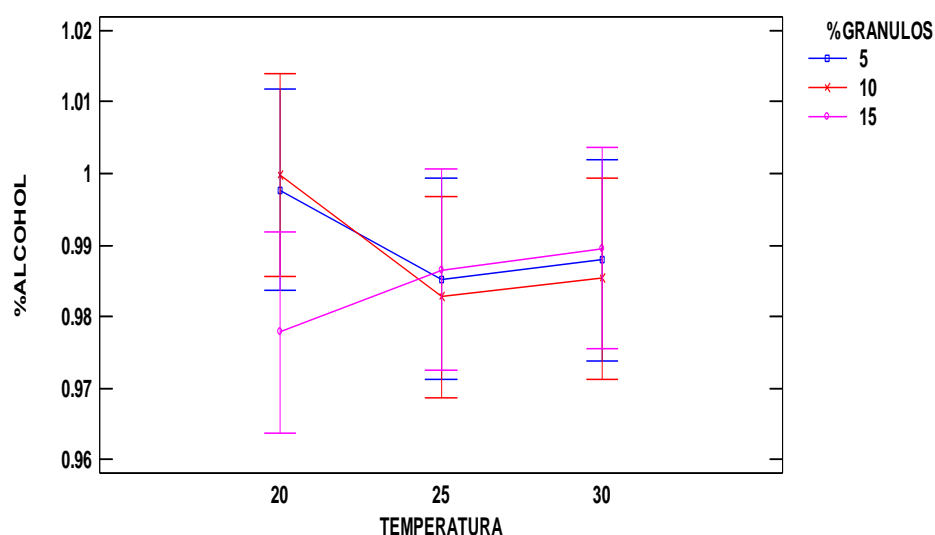


Figura 8. Gráfica de Interacciones para el porcentaje de alcohol

### 5.1.2. MEDICIÓN DEL PH

Los resultados de pH se muestran en la Tabla (15), en los diferentes tratamientos de la bebida funcional.

Tabla 15. Porcentaje de pH para la bebida funcional

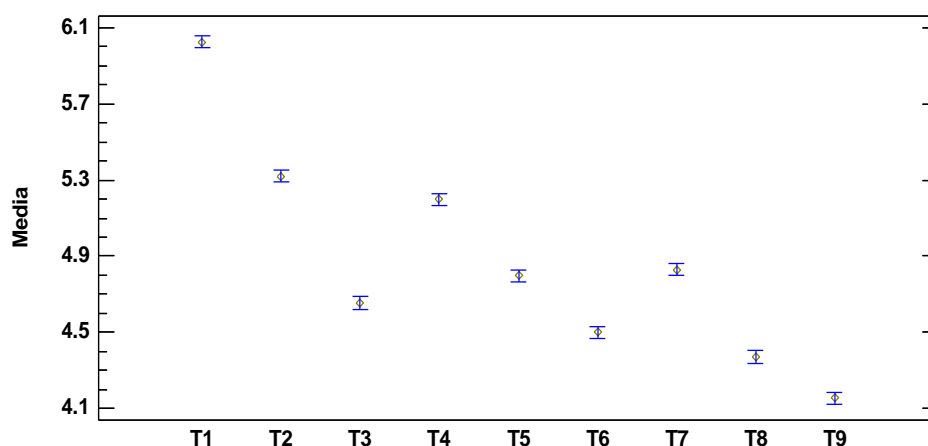
Tratamiento	Variables			pH	
	T°	% Gran	$\bar{x}$	$\pm$	S
T1	20	5	6.02 <sup>h</sup>	$\pm$	0.00
T2	20	10	5.32 <sup>g</sup>	$\pm$	0.02
T3	20	15	4.65 <sup>d</sup>	$\pm$	0.00
T4	25	5	5.20 <sup>f</sup>	$\pm$	0.00
T5	25	10	4.79 <sup>e</sup>	$\pm$	0.00
T6	25	15	4.50 <sup>c</sup>	$\pm$	0.03
T7	30	5	4.83 <sup>e</sup>	$\pm$	0.04
T8	30	10	4.37 <sup>b</sup>	$\pm$	0.01
T9	30	15	4.15 <sup>a</sup>	$\pm$	0.01

Donde  $\bar{x}$  es la media, S es la desviación estándar

Las letras iguales significan que no existe diferencia significativa, test de Tukey HSD (Anexo 12).

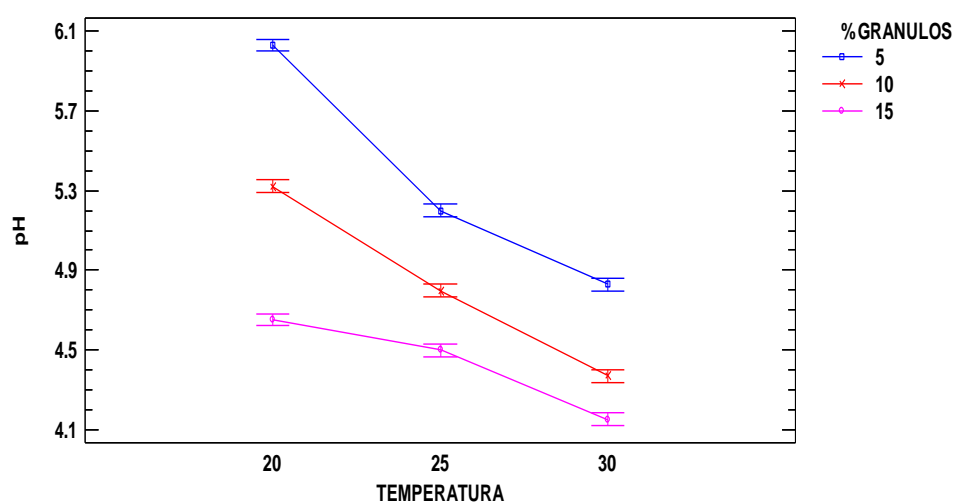
Respecto al pH el T1 es el que tuvo mayor contenido de pH 6.02 % y el T9 menor contenido de pH 4.15 %. Es decir, el pH tiende a ser ligeramente ácido. Evaluando el ANVA (Anexo 12), el valor-P < 0.05, por lo que estadísticamente los valores obtenidos del pH para los diferentes tratamientos presentan diferencia mínima significativa, es decir son diferentes, por lo menos dos de ellos a un nivel de significancia de 5 %.

Cuando realizamos el Test de Tukey respecto al pH podemos observar que los tratamientos T5 = T7 no presentan diferencia mínima significativa, es decir, son iguales, dicho dato se corrobora con la Tabla (15) se observan letras iguales, aunque matemáticamente sean diferentes se puede decir que estos tratamientos estadísticamente son iguales a un nivel de significancia de 5 %. Así mismo el diagrama de media para el pH Figura (9) nos indica que el T5 y T7 se superponen, mientras que el resto de los tratamientos no lo hacen, es decir, son diferentes.



**Figura 9.** Gráfica de Medias para el pH Evaluados a través del test de Tukey, para  $\alpha = 5\%$  (Anexo 12)

En la Figura (10), se evidencia que a mayor porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación, disminuirá el pH en la bebida funcional.



**Figura 10.** Gráfica de Interacciones para el pH

Santos y vega (2012) fermentaron leche entera ultrapasteurizada con gránulos de kéfir a distintos tiempos y temperaturas de incubación, (6, 4 y 3 horas - 25, 30 y 35 °C respectivamente) los valores de pH obtenidos al final de la fermentación están en el rango de 4.2 a 4.6, pH establecido como característico, de las leches fermentadas con gránulos de kéfir.

García y Hernández (2015) en su investigación afirma lo siguiente: El pH se comporta de manera distinta dentro de las fermentaciones, esto se debe a distintas razones como lo son la agitación de la leche; ya que si esta varía aunque sea un poco puede influir en la fermentación de la leche, la temperatura de fermentación influye en el comportamiento del pH ya que a mayor temperatura se produce una mayor cantidad de etanol, lo que conlleva a una disminución de pH debido a que se mejoran las condiciones que hacen posible la fermentación de la leche.

### 5.1.3. COMPOSICIÓN PROXIMAL

En la Tabla (16) se muestra los resultados de composición proximal del T3 de la bebida funcional.

**Tabla 16.** *Resultados composición proximal*

<b>Análisis</b>	<b>Porcentaje (%)</b>
Humedad	86.90
Proteína	2.83
Grasa	3.10
Ceniza	1.27
Carbohidratos	5.90
Acides (Ac. Láctico)	1.16

**Fuete:** Laboratorio de Análisis Químico – UNSAAC

El T3 obtuvo mayor aceptación en el análisis organoléptico como se muestra en la Figura (13), motivo por el cual se mandó a analizar en el laboratorio especializado de la Universidad San Antonio Abad del Cusco, reportando como resultados los datos que se encuentran en la tabla (16), dichos resultados se corrobora con el Anexo (13).

Santos y Vega (2012) reportan 0.77 % de acidez titulable, 89.04 % de humedad, 0.69 % de ceniza, 3.31 % de grasa y 3.22 % de proteína total, estos resultados se obtuvieron de una fermentación de 25 °C por 6 horas, indicando además que dichos resultados se encuentran dentro de la especificaciones establecidas por la Norma Internacional CODEX STAN 243-2003, que especifica 0.60 % mínimo de acidez titulable como ácido

láctico, menos del 10 % para grasa y mínimo de 2.7 % de proteína láctea para leche entera.

## 5.2. CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS

### 5.2.1. RECUENTO DE COLIFORMES TOTALES

No se identificaron coliformes totales en ninguno de tratamientos, reportando lo siguiente: Coliformes totales en placas de agar bilis rojo violeta, incubadas por 24 h a 35 °C: 0 UFC/g de muestra. Por lo que no existe efecto significativo del porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación que influyan en las características microbiológicas (coliformes totales) de una bebida funcional.

Con respecto al recuento de Coliformes totales se observó ausencia, lo que podemos asegurar que la leche fermentada en las diferentes temperaturas (20, 25 y 30 °C), se elaboró en condiciones higiénicas; ya que este son indicador de calidad sanitaria lo cual brinda seguridad en cuanto al consumo de esta bebida funcional. (García y Hernández, 2015)

### 5.2.2. RECUENTO DE HONGOS Y LEVADURA

Los resultados de recuento de levaduras se muestran en la Tabla (17), en los diferentes tratamientos de la bebida funcional. En la prueba de recuento de hongos y levaduras realizada a todos los tratamientos no se identificaron hongos solo levaduras, indicando este que la bebida fue elaborada en las condiciones adecuadas.

**Tabla 17.** Reporte de levaduras en la bebida funcional

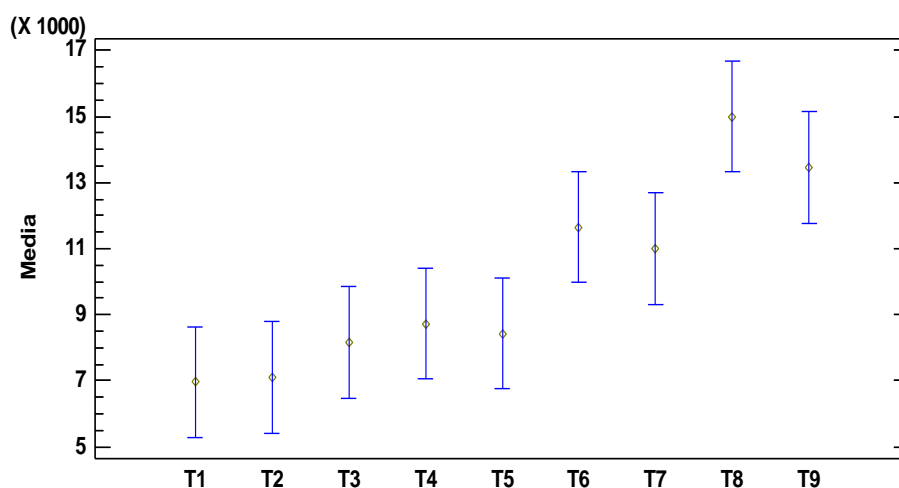
Tratamiento	Variables		Levaduras		
	T°	% Gran	$\bar{x}$	$\pm$	S
T1	20	5	6959.53 <sup>a</sup>	$\pm$	69.28
T2	20	10	7105.71 <sup>a</sup>	$\pm$	100.66
T3	20	15	8151.48 <sup>a,b</sup>	$\pm$	150.11
T4	25	5	8700.52 <sup>a,b,c</sup>	$\pm$	642.91
T5	25	10	8417.33 <sup>a,b,c</sup>	$\pm$	450.92
T6	25	15	11614.29 <sup>c,d,e</sup>	$\pm$	839.36
T7	30	5	10900.39 <sup>b,c,d</sup>	$\pm$	1249.00
T8	30	10	14764.81 <sup>e</sup>	$\pm$	2357.96
T9	30	15	13252.35 <sup>d,e</sup>	$\pm$	2003.33

Donde  $\bar{x}$  es la media, S es la desviación estándar

Las letras iguales significan que no existe diferencia significativa, test de Tukey HSD (Anexo 14).

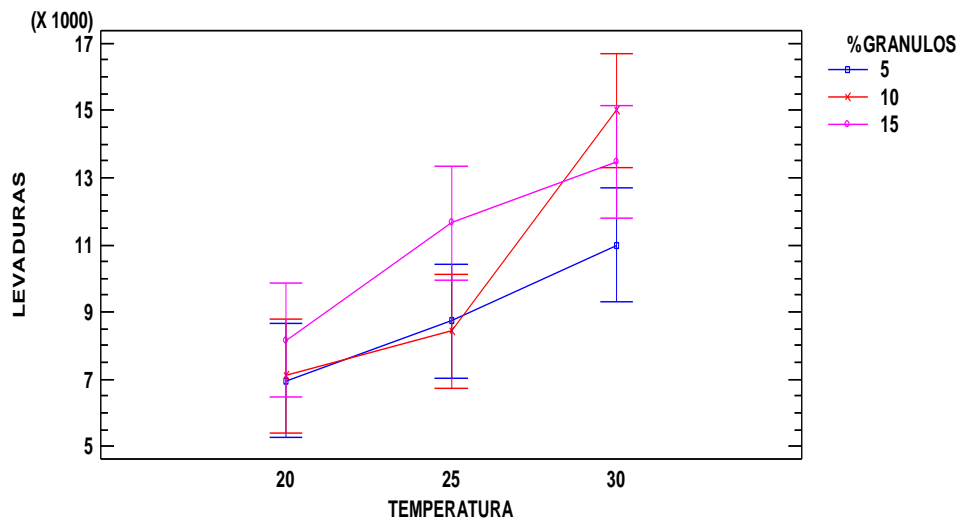
Respecto al recuento de levaduras el T1 es el que tuvo menor contenido de levaduras 6959.538 UFC/g y el T8 mayor contenido de levaduras 14764.818 UFC/g. Evaluando el ANVA (Anexo 14), el valor-P < 0.05, 3 valores son menores que 0.05, por lo que estadísticamente los valores obtenidos del recuento de levaduras para los diferentes tratamientos presentan diferencia mínima significativa, es decir son diferentes, a un nivel de significancia de 5 %.

Cuando realizamos el Test de Tukey respecto al pH podemos observar que algunos de los tratamientos no presentan diferencia mínima significativa, es decir, son iguales, dicho dato se corrobora con la Tabla (17) se observan letras iguales, aunque matemáticamente sean diferentes se puede decir que estos tratamientos estadísticamente son iguales a un nivel de significancia de 5 %. Así mismo el diagrama de media para levaduras Figura (1) nos indica que algunos tratamientos se superponen, mientras que el resto de los tratamientos no se superponen, es decir, son diferentes.



**Figura 11.** Gráfica de Medias para el recuento de levaduras Evaluados a través del test de Tukey, para  $\alpha = 5\%$  (Anexo 14)

En la figura (12) se evidencia que a mayor porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación, mayor será la presencia de levaduras en la bebida funcional.



**Figura 12.** Gráfica de Interacciones para el recuento de levaduras Chirinos y Camacho (2012) en su investigación reportan que los resultados:  $6 \times 10^5$  ufc/mL en el kéfir de 24 horas de fermentación y  $8 \times 10^5$  ufc/mL en el kéfir de 48 horas de fermentación. Las levaduras son las responsables de transformar los azúcares y las proteínas de la leche en etanol y  $\text{CO}_2$ , lo que contribuye en las características del producto final. Además de que sus tratamientos, se encuentra dentro de los parámetros de normalidad, por lo tanto son APTAS para el consumo humano.

### 5.3. CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS

El olor, color, sabor y textura son las cualidades generales salientes de la bebida funcional. Los ingredientes (leche, azúcar, gránulos de kéfir) así como los parámetros usados en la producción de la bebida tienen su propio efecto en las características sensoriales del producto final.

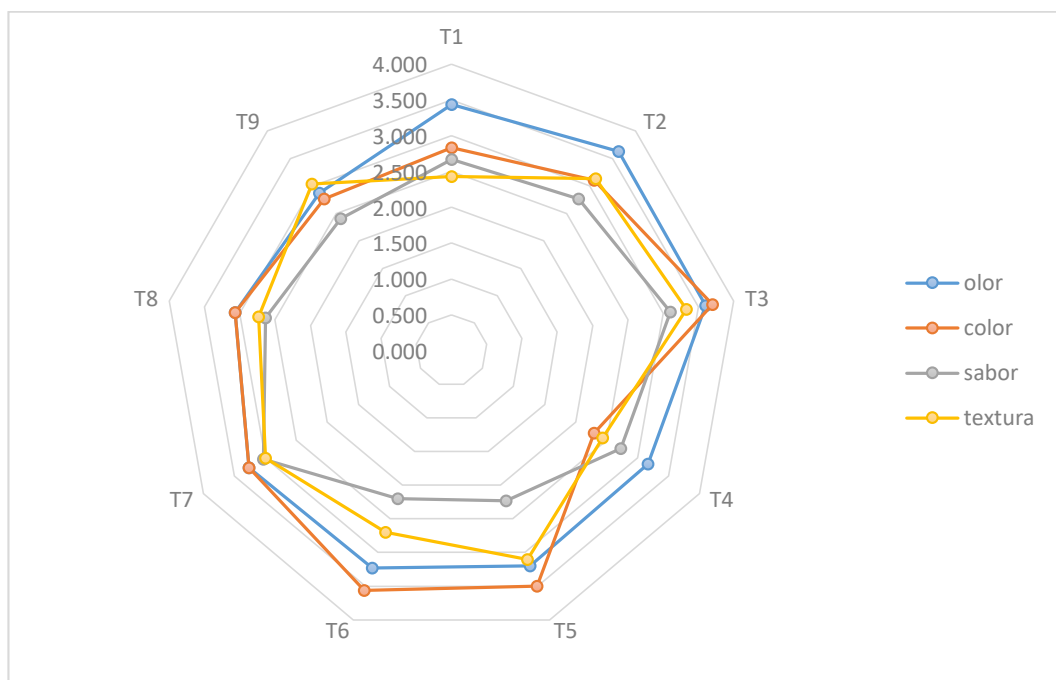
Los resultados se muestran en la Tabla (18), en ella se aprecia que la puntuación promedio obtenida por la calificación de los panelistas, oscila entre apreciaciones de “me disgusta” y “me gusta” respecto al olor, color y sabor, mientras que en la textura va de “me disgusta” a “no me gusta ni me disgusta”, este hecho es apreciable también en el diagrama radial Figura (13).

**Tabla 18.** *Evaluación del Kéfir*

Tratamiento	Variables		Color	Olor	Sabor	Textura
	T°	%Gran	$\hat{x}$	$\hat{x}$	$\hat{x}$	$\hat{x}$
T1	20	5	3	4	3	2
T2	20	10	3	3	2	3
T3	20	15	4	4	3	4
T4	25	5	2	3	3	2
T5	25	10	4	4	2	3
T6	25	15	3	3	2	2
T7	30	5	3	3	4	3
T8	30	10	3	3	3	2
T9	30	15	3	3	2	3
T10 (CONTROL)	-	-	5	4	5	4

Donde  $\hat{x}$  es la moda, se utilizó la prueba de comparación de rango múltiple de Dunnett y se tomó como control a un yogur comercial.





**Figura 13.** Diagrama radial para la evaluación organoléptica

En la Figura (13), se observa que todos los tratamientos respecto olor, color y sabor oscilan entre 2 a 4, por lo que los resultados de los atributos son dispersos entre los tratamientos, mientras que la textura oscila entre los valores de 2 y 3 por lo que sus atributos no se encuentran dispersos entre los tratamientos.

La aplicación del ANVA para los atributos, se muestra en la Tabla (19), en ella se aprecia que los cuatro atributos evaluados muestran diferencia significativa, el valor-P < 0.05; es decir, los panelistas encontraron diferencias apreciables en estos aspectos.

**Tabla 19.** Análisis de varianza para los atributos sensoriales

Atributo	Valor F	Valor p
Olor	4.17	0.000
Color	11.34	0.000
Sabor	13.56	0.000
Textura	4.60	0.000

\*Existe diferencia significativa entre tratamientos,  $\alpha = 5\%$

Asimismo se aplicó una prueba Dunnett contra testigo (control) el cual es una bebida láctea fermentada (yogur natural comercial), los resultados se presentan en la Anexo (15), Anexo (16), Anexo (17) y Anexo (18) en ella se aprecia que en el caso del Olor, los tratamientos T2 y T3 presentan similar olor a la muestra control. En cuanto al caso del Color, el tratamiento T3 presenta similar color a la muestra control. Por otra parte con respecto al Sabor, ninguno de los tratamientos presenta similitud con el sabor del yogur comercial (control), sin embargo, el

tratamiento T3 es el que se acerca más. Por otra parte en el atributo de la Textura, T2, T3, T5 y T9 presentan similar textura al yogur comercial (control).

Alvarado (2018) realizó un análisis sensorial, teniendo una escala hedónica de 1 a 7, considerando la calificación en manera ascendente, evaluaron textura, olor, sabor y color. Los resultados obtenidos fueron: para la textura, su calificación obtenida por medio de los panelistas demostró que la bebida funcional es considerada como un producto fluido. Para el olor, la bebida está considerada como un producto láctico acidificado. Donde el descriptor de acético muestra mayor calificación 4.1 en la escala creciente del olor, que se podría considerar como una característica otorgada por el proceso metabólico de las levaduras presentes en el gránulo de kéfir. Para el sabor (salado, ácido, amargo, dulce), donde, el sabor ácido es el que predomina; obteniendo una puntuación media de 6.7 % en la escala creciente de intensidad de sabor. Al igual que el olor, esta característica es típica de una fermentación realizada por las levaduras. Para la caracterización sensorial del color el 70 % de los catadores calificaron a la bebida como un color blanco amarillento, mientras que el 30 % de los catadores atribuyeron un color amarillo tenue.

## CONCLUSIONES

- El porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación presentan un efecto significativo, pues estos influyen en las características fisicoquímicas, microbiológicas y organolépticas de la bebida funcional.
- En referencia a las características fisicoquímicas, se concluye que la interacción del porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación de una bebida funcional no presenta efecto significativo en cuanto al porcentaje de alcohol, esto se debe a que el kéfir es una bebida de bajo contenido alcohólico y que todos los tratamientos llegaron a dicho valor a los 4 días de almacenamiento. Presenta un efecto significativo en cuanto al pH, se evidencia que a mayor porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación, este valor ira disminuyendo. En cuanto al análisis de composición proximal (humedad, proteína, grasa, cenizas, carbohidratos y acidez) los datos obtenidos cumplen con los requisitos establecidos por el CODEX STAN 243-2003.
- En cuanto a las características microbiológicas no se reportaron datos en cuanto a la presencia de coliforme totales como de hongos, esto quiere decir que, la bebida funcional se elaboró en condiciones higiénicas adecuadas. Con respecto al recuento de levaduras presentan un efecto significativo, además los valores obtenidos se encuentran dentro de los requisitos establecidos por el CODEX STAN 243-2003.
- Para las características organolépticas de la bebida funcional: color, olor sabor y textura presentaban un efecto significativo de acuerdo a la calificación realizada por los panelistas semi – entrenados. Se concluye que respecto al color el Tratamiento 3 (30 °C y 5 %) no presenta diferencia significativa respecto a la muestra patrón, respecto al olor el Tratamiento 2 (25 °C y 5 %) y el Tratamiento 3 (30 °C y 5 %) no presentan diferencia significativa respecto a la muestra patrón, respecto al sabor todos los tratamientos difieren de la muestra patrón, respecto a la textura el Tratamiento 2 (25 °C y 5 %), Tratamiento 3 (30 °C y 5 %), Tratamiento 5 (25 °C y 10 %) y Tratamiento 9 (30 °C y 15 %) no presentan diferencia significativa respecto a las muestra patrón.

## **RECOMENDACIONES**

- Liofilizar los gránulos de kéfir, puesto que permitirá trabajar mejor y además y además garantizara la inocuidad del proceso y producto final.
- Realizar análisis de densidad, viscosidad, lactosa y solidos totales además de reportar los datos a las 24, 48 y 72 horas de almacenamiento de la bebida funcional.
- Realizar un estudio de características organolépticas de olor y sabor del producto utilizando aditivos comerciales y teniendo como jueces a niños menores de 5 años.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvarado, P. M. (2018). *Desarrollo de un bioproceso para la obtención de una bebida funcional a partir de lactosuero en polvo y gránulos de kéfir*. (Tesis de pregrado). Recuperado de <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/8282>.
- Bautista, O. C. (2010). *Elaboración de una bebida fermentada a base de kéfir (realizar los análisis físicos químicos a la bebida láctea)*. (Tesis de pregrado). Recuperado de <https://es.scribd.com/document/286178672/>
- Baltes Werner. (2007). *Química de los Alimentos*. Zaragoza, España: Editorial Acribia S.A.
- Bolaños, V. y Jiménez, P. (2014). *Elaboración de dos bebidas, fermentadas con gránulos de kéfir en agua y leche, para corroborar si son bebidas probióticas según la norma INEN 2395-2011*. (Tesis de Pregrado). Recuperado de <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/7976>.
- Boldrini, G. (2009). *Consumo de Kefir y Frecuencia Evacuatoria*. (Tesis de Licenciatura). Recuperado de [http://redi.ufasta.edu.ar:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/498/2009\\_N\\_095.pdf?sequence=1](http://redi.ufasta.edu.ar:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/498/2009_N_095.pdf?sequence=1)
- Briceño, k. y Castro, K. (2015). *Influencia del volumen de oxígeno, en el grado alcohólico y acidez volátil, durante el proceso de fermentación Vitis vinífera Var. Gross colman procedente de Cascas*. (Tesis de pregrado). Recuperado de: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/1529/Brice%C3%B1o%20Prado%2c%20Karol%20Elizabeth.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Chirinos, N. y Camacho R. (2012). *Grado de aceptabilidad, análisis microbiológico y composición química del kéfir*. Revista de investigación carrera profesional obstetricia. Recuperado de <https://revistas.uancv.edu.pe>.
- Días Rodríguez, F. Y. (2007). *Estandarización de parámetros fisicoquímicos de la leche cruda recolectada en el centro de acopio lechero ASOPOLECHE*.

(Tesis de pregrado). Recuperado de:  
<http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/16067/43931037.pdf;jsessionid=BC6CACD595ADBF50680E62E569A7C812?sequence=2>

Galvez, M. A. y Heras, M. E. (2012). *Estudio experimental sobre la obtención del kéfir (leche kefirada) en nuestro medio, partiendo de la producción y mantención de los gránulos de kéfir*. (Tesis de pregrado). Recuperado de <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/2368>.

García, M., Maza, M., Pérez, M., Legorreta P., Moncada, A., Pelayo B., Valdés S., Chávez L., Calderón A., Revuelta J., y López V. (2011). *El libro blanco de la leche y de los productos lácteos*. Recuperado de [https://www.academia.edu/37003152/Libro\\_Blanco\\_Leche](https://www.academia.edu/37003152/Libro_Blanco_Leche).

García, J. y Hernández, R. (2015). *Fermentación de leche descremada UHT a partir de gránulos de kefir* (Tesis de Licenciatura). Universidad de El Salvador. El Salvador.

Gómez, S., Nova, E. y Marcos, A. (s.f). Probióticos. En Aguilera, C. (ed). *Alimentos funcionales aproximación a una nueva alimentación*. Madrid, España

Gutiérrez, H. y Vara R., (3 Ed.). (2012). *Análisis y diseño de experimentos*. México D. F., México: McGRAY-Hill/Interamericana Editores, S.A. de C.V.

Gutiérrez, N., Pérez, Q., Canales, I. y Oyagüe, J., (s.f) *Efecto del porcentaje de inóculo y tiempo de incubación sobre las características físico-químicas del kéfir*. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Estado de Hidalgo, México.

Instituto Nacional de Estadística e Informática. (2018). Desnutrición crónica afectó al 12,9% de la población menor de cinco años de edad en el año 2017. Recuperado de <https://www.inei.gob.pe/prensa/noticias/desnutricion-cronica-afecto-al-129-de-la-poblacion-menor-de-cinco-anos-de-edad-en-el-ano-2017-10773/>.

- Jubert, A. (2016) *Técnicas para el laboratorio en calidad de leche*. En Calvet, E. (ed). *Guía del asesor en calidad de leche sentando las bases prácticas*. Barcelona, España: Servet editorial.
- Lalinde, E. y Moreno, T. (2013). *Operaciones básicas de laboratorio*. Recuperado de <https://www.unirioja.es/dptos/dq/docencia/material/obl/OBLFINAL.PDF>
- Leches fermentadas especificaciones. Especificación Técnica Cubana. Oficina Nacional de Normalización NC-TS 457:2007. Disponible en: <http://www.ica.edu.cu/Normas/Alimentos/Leche/NC%20TS%20457.%20Leches%20fermentadas.%20Especific.pdf>.
- Madrid Vicente A. y Madrid Cenzano J. (3ª Edición). (2001). *Nuevo Manual de Industrias Alimentarias*. Madrid, España: A Madrid Vicente Ediciones y Ediciones Mundi-Prensa.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. (2005). *Alimentos funcionales*. Madrid, España: Editorial Rumagraf S.A.
- Munuera, J. L. (2010). *Casos de empresas murcianas de éxito*. Madrid, España: Esic Editorial.
- Muñoz, A., Vega, J. y Vera, J. (2014). Determinación de análisis proximal de productos alimenticios. Recuperado de: <https://es.slideshare.net/vegabner/determinacin-de-analisis-proximal-de-productos-alimenticios>.
- Norma del Codex para leches fermentadas CODEX STAN 243-2003. [Acceso el 30 de abril de 2018]. Recuperado de: <http://www.fao.org/3/a-i2085s.pdf>.
- Pretell, A. y Urraca, E. (2012). *Características fisicoquímicas y aceptabilidad general de un kefir de leche de vaca (Bos taurus) y de cabra (Capra hircus)*. Pueblo continente, 23(1), 145-12.
- Programa Nacional de Investigación Agraria (s.f). *PNIA en Bovinos y Ovinos*. Recuperado de <http://www.inia.gob.pe/programas/bovinos-y-ovinos>

- Ramos, E., Romero, J., Wörnberg, J. y Marcos, A. (2007). *¿Más que alimentos? En Aguilera, C. (ed). Alimentos funcionales aproximación a una nueva alimentación.* Madrid, España. Recuperado de <http://www.madrid.org/bvirtual/BVCM009703.pdf>.
- Robinson, R. K. (1987). *Microbiología Lactologica.* Zaragoza, España: Editorial Acribia S.A.
- Rodriguez J. (1990). *Introducción a la termodinámica con algunas aplicaciones de ingeniería.* Recuperado de <http://www.cie.unam.mx/~ojs/pub/Curso%20Mabe%20Termo/Introducci%C3%B3n%20a%20la%20Termodinamica.pdf>.
- Sagredo, M. A. (Productor). (2007). *El kefir: kefir de leche, kefir de agua y kefir de té.* Madrid. España.
- Santos, A. y Vega, D. (2012). *Estandarización del proceso de fermentación de leche entera ultrapasteurizada con gránulos de kefir.* (Tesis de Licenciatura). Universidad de El Salvador. El Salvador.
- Secretaría de Educación Pública. (2006). *Elaboración de Productos Lácteos.* México: Editorial Trillas S.A.
- Tortora, G. Funke, B. y Case, C. (2007). *Introducción a la Microbiología.* Recuperado de [https://books.google.com.pe/books?id=Nxb3iETuwplC&pg=PR5&dq=microbiolog%C3%ADa+general&hl=es419&sa=X&ved=0ahUKEwii\\_ThtuDcAhWno1kKHTJ5AkcQ6AEIJzAA#v=onepage&=microbiolog%C3%ADa%20general&f=false](https://books.google.com.pe/books?id=Nxb3iETuwplC&pg=PR5&dq=microbiolog%C3%ADa+general&hl=es419&sa=X&ved=0ahUKEwii_ThtuDcAhWno1kKHTJ5AkcQ6AEIJzAA#v=onepage&=microbiolog%C3%ADa%20general&f=false)
- Walstra, P. Geurts, T. J. Noomen, A. Jellema, A. y Van Boekel, M. A. J. S. (2001). *Ciencia de la leche y tecnología de productos lácteos.* Zaragoza, España: Editorial Acribia S.A.
- Zuluaga, N. (2017). *El análisis sensorial de alimentos como herramienta para la caracterización y control de calidad de derivados lácteos.* (Tesis de Maestría). Recuperado de <http://bdigital.unal.edu.co/61962/1/1128280679.2018.pdf>



## ANEXOS

### Anexo 1. Reporte del análisis físico-químico de la leche

<b>Muestra</b>	<b>Densidad corregida (g/ml)</b>	<b>Prueba de alcohol</b>	<b>pH (%)</b>	<b>Acidez titulable (g/100G)</b>	<b>Solidos totales (%)</b>
M1	1.026	Coagulable	6.5	0.14	7.19
M2	1.027	Coagulable	6.7	0.12	7.23
M3	1.026	Coagulable	6.5	0.13	7.21
M4	1.029	Coagulable	6.7	0.14	7.18
M5	1.028	Coagulable	6.6	0.14	7.20
M6	1.026	Coagulable	6.5	0.12	7.16

**Anexo 2.** Interacción de variables independientes para la elaboración de la bebida fermentada

<b>Temperatura de incubación (°C)</b>	<b>de Gránulos de kéfir (%)</b>	<b>Tratamiento</b>
20	5	T1
20	10	T2
20	15	T3
25	5	T4
25	10	T5
25	15	T6
30	5	T7
30	10	T8
30	15	T9

**Anexo 3.** Resultado del análisis de porcentaje de alcohol de todos los tratamientos con sus respectivas replicas

Tratamiento	Replicas	Peso del matraz	Peso de muestra	Peso final	% de alcohol
T1	R1	50.9343	100.0113	150.6935	0.99747928
	R2	50.8562	100.0018	150.501	0.99643006
	R3	49.7744	100.0062	149.706	0.99925405
	Promedio				0.99772113
T2	R1	50.9706	100.024	150.98	0.99985404
	R2	49.8964	100.024	149.8718	0.99951412
	R3	50.9202	100.0087	150.926	0.999971
	Promedio				0.99977972
T3	R1	50.3486	100.074	148.6233	0.9820203
	R2	49.7755	100.0972	148.0112	0.98140308
	R3	50.0883	100.0134	147.1063	0.97005001
	Promedio				0.97782446
T4	R1	49.7602	100.0013	147.7607	0.97999226
	R2	51.1649	100.0389	150.9149	0.99711212
	R3	50.3837	100.0983	148.3518	0.97871892
	Promedio				0.98527443
T5	R1	51.0991	100.0087	148.7828	0.97675202
	R2	49.8358	100.0069	148.7433	0.98900676
	R3	51.3932	100.0946	149.7281	0.98241963
	Promedio				0.98272614
T6	R1	49.8424	100.0525	148.186	0.98291997
	R2	49.9417	100.0398	148.3288	0.98347958
	R3	49.8424	100.0803	149.236	0.99313851
	Promedio				0.98651268
T7	R1	51.0393	100.1985	150.099	0.98863456
	R2	51.0172	100.0029	149.7918	0.98771736
	R3	49.8942	100.0745	148.696	0.98728247
	Promedio				0.98787813
T8	R1	51.055	100.0653	150.1515	0.99031832
	R2	50.4168	100.1383	148.2691	0.97717157
	R3	49.8549	100.0264	148.7153	0.98834308
	Promedio				0.98527766
T9	R1	64.2383	75.0199	140.5828	1.01765665
	R2	50.9163	75.014	124.014	0.9744541
	R3	50.3457	64.4305	113.2651	0.97654682
	Promedio				0.98955252

**Anexo 4.** Resultado del análisis de pH de todos los tratamientos con sus respectivas replicas

Tratamiento	Replicas	Dato
T1	R1	6.02
	R2	6.03
	R3	6.03
	Promedio	6.02666667
T2	R1	5.3
	R2	5.34
	R3	5.32
	Promedio	5.32
T3	R1	4.65
	R2	4.65
	R3	4.66
	Promedio	4.65333333
T4	R1	5.2
	R2	5.2
	R3	5.2
	Promedio	5.2
T5	R1	4.79
	R2	4.8
	R3	4.8
	Promedio	4.79666667
T6	R1	4.54
	R2	4.49
	R3	4.47
	Promedio	4.5
T7	R1	4.88
	R2	4.82
	R3	4.79
	Promedio	4.83
T8	R1	4.35
	R2	4.38
	R3	4.38
	Promedio	4.37
T9	R1	4.16
	R2	4.14
	R3	4.16
	Promedio	4.15333333

**Anexo 5.** Resultado del análisis recuento de levaduras de todos los tratamientos con sus respectivas replicas

Tratamiento	Replicas	Dato
T1	R1	6880
	R2	7000
	R3	7000
	Promedio	6960
T2	R1	7120
	R2	7200
	R3	7000
	Promedio	7106.66667
T3	R1	8160
	R2	8300
	R3	8000
	Promedio	8153.33333
T4	R1	8000
	R2	9200
	R3	9000
	Promedio	8733.33333
T5	R1	8400
	R2	8900
	R3	8000
	Promedio	8433.33333
T6	R1	11360
	R2	12600
	R3	11000
	Promedio	11653.33333
T7	R1	9600
	R2	11400
	R3	12000
	Promedio	11000
T8	R1	17600
	R2	14400
	R3	13000
	Promedio	15000
T9	R1	11200
	R2	14200
	R3	15000
	Promedio	13466.6667

**Anexo 6.** Escala hedónica para evaluar la aceptabilidad general de una bebida funcional

<b>PRUEBA DE DEGUSTACIÓN BEBIDA FUNCIONAL</b>										
<b>Nombres y Apellidos:</b> .....										
<b>Edad:</b> .....					<b>Fecha:</b> .....					
<b>Producto:</b>										
<b>Pruebe el producto que se presenta ante usted indique los valores que se muestran según su grado de aceptabilidad:</b>										
(1) Me disgusta mucho										
(2) Me disgusta										
(3) No me gusta ni me disgusta										
(4) Me gusta										
(5) Me gusta mucho										
	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>	<b>T5</b>	<b>T6</b>	<b>T7</b>	<b>T8</b>	<b>T9</b>	<b>T10</b>
<b>Olor</b>										
<b>Color</b>										
<b>Sabor</b>										
<b>Textura</b>										

**Anexo 7.** Datos individuales de la evaluación sensorial respecto al olor

Panelista	Tratamiento									
	N°	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
1	4	4	4	2	4	3	3	2	3	4
2	3	3	4	3	3	4	3	3	3	4
3	2	3	4	2	3	3	2	3	3	4
4	2	3	2	2	2	2	3	2	2	3
5	4	3	4	3	1	2	4	3	2	5
6	4	5	4	5	5	5	5	5	5	5
7	5	5	3	4	2	4	2	2	3	5
8	4	3	4	3	4	3	3	3	3	4
9	4	3	3	4	4	3	3	4	2	4
10	4	5	4	5	4	3	2	4	1	2
11	3	4	4	3	3	3	4	3	4	4
12	3	3	3	3	4	4	5	3	3	5
13	4	4	4	2	4	3	3	2	3	4
14	4	5	4	5	5	5	5	5	5	5
15	3	3	4	3	3	4	3	3	3	4
16	2	3	4	2	3	3	2	3	3	4
17	2	3	2	2	2	2	3	2	2	3
18	4	3	4	3	1	2	4	3	2	5
19	4	5	4	5	5	5	5	5	5	5
20	5	5	3	4	2	4	2	2	3	5
21	4	3	4	3	4	3	3	3	3	4
22	4	3	3	4	4	3	3	4	2	4
23	4	3	4	3	1	2	4	3	2	5
24	4	5	4	5	4	3	2	4	1	2
25	3	4	4	3	3	3	4	3	4	4
26	3	3	3	3	4	4	5	3	3	5
27	4	4	4	2	4	3	3	2	3	4
28	3	3	4	3	3	4	3	3	3	4
29	2	3	4	2	3	3	2	3	3	4
30	2	3	2	2	2	2	3	2	2	3

**Anexo 8.** Datos individuales de la evaluación sensorial respecto al color

Panelista	Tratamiento										
	N°	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	MP
1	4	3	4	2	4	3	2	2	2	2	4
2	3	3	4	2	4	3	4	3	3	3	5
3	2	2	4	1	3	2	3	3	3	3	4
4	2	3	2	2	3	3	3	3	3	2	4
5	3	3	4	2	2	5	3	4	4	4	4
6	3	3	3	2	3	5	5	3	3	3	5
7	4	2	2	3	4	5	4	1	2	2	3
8	4	4	5	3	4	4	3	3	3	3	5
9	3	3	4	3	4	3	3	3	3	2	5
10	1	4	5	2	4	2	1	5	2	2	1
11	3	4	4	4	4	4	4	4	3	3	5
12	2	4	4	3	4	4	4	4	4	4	5
13	4	3	4	2	4	3	2	2	2	2	4
14	3	3	4	2	4	3	4	3	3	3	5
15	2	2	4	1	3	2	3	3	3	3	4
16	2	3	2	2	3	3	3	3	3	2	4
17	3	3	4	2	2	5	3	4	4	4	4
18	3	3	3	2	3	5	5	3	3	3	5
19	4	2	2	3	4	5	4	1	2	2	3
20	3	3	4	2	2	5	3	4	4	4	4
21	2	3	2	2	3	3	3	3	3	2	4
22	3	3	3	2	3	5	5	3	3	3	5
23	4	4	5	3	4	4	3	3	3	3	5
24	3	3	4	3	4	3	3	3	3	2	5
25	1	4	5	2	4	2	1	5	2	2	1
26	3	4	4	4	4	4	4	4	3	3	5
27	2	3	4	3	4	4	4	4	4	4	5
28	2	2	5	1	3	3	3	3	3	4	4
29	4	3	4	2	4	3	2	2	2	2	4
30	3	3	4	2	4	3	4	3	3	3	5



**Anexo 9.** Datos individuales de la evaluación sensorial respecto al sabor

Panelista	Tratamiento									
	N°	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
1	3	2	2	2	1	2	1	3	2	3
2	4	2	3	5	2	3	4	2	2	5
3	2	1	3	3	2	1	4	3	2	5
4	3	4	4	2	2	2	3	2	2	5
5	3	2	2	3	2	2	4	2	3	5
6	1	2	3	1	2	2	1	3	3	5
7	4	2	3	5	2	3	4	2	2	5
8	1	2	3	1	2	2	1	3	3	5
9	2	1	3	3	2	1	4	3	2	5
10	3	2	2	3	2	2	4	2	3	5
11	1	4	5	1	1	1	1	3	1	4
12	3	3	4	3	3	2	3	2	3	5
13	3	4	4	2	2	2	3	2	2	5
14	3	4	4	4	3	2	2	3	2	4
15	5	4	1	4	5	4	4	3	3	5
16	2	3	3	3	2	2	5	2	3	4
17	2	4	4	2	3	4	5	4	3	4
18	3	2	2	2	1	2	1	3	2	3
19	4	2	3	5	2	3	4	2	2	5
20	3	4	4	2	2	2	3	2	2	5
21	3	2	2	3	2	2	4	2	3	5
22	1	2	3	1	2	2	1	3	3	5
23	2	1	3	3	2	1	4	3	2	5
24	1	4	5	1	1	1	1	3	1	4
25	3	3	4	3	3	2	3	2	3	5
26	3	4	4	4	3	2	2	3	2	4
27	5	4	1	4	5	4	4	3	3	5
28	2	3	3	3	2	2	5	2	3	4
29	3	1	2	2	1	2	1	3	2	3
30	2	4	4	2	3	4	5	4	3	4

**Anexo 10.** Datos individuales de la evaluación sensorial respecto a la textura

Panelista	Tratamiento									
	N°	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
1	1	3	1	1	1	2	1	2	2	3
2	2	3	4	2	3	4	2	2	1	4
3	3	4	5	2	5	3	3	2	3	4
4	2	4	5	2	2	2	2	4	3	5
5	2	3	2	3	3	2	3	3	3	4
6	2	3	4	2	3	4	2	2	1	4
7	3	3	3	3	3	2	5	3	3	2
8	2	3	4	2	3	2	3	4	4	1
9	3	3	4	3	4	3	2	3	3	5
10	3	4	5	2	5	3	3	2	3	4
11	2	4	5	2	2	2	2	4	3	5
12	1	3	2	3	3	2	3	3	3	4
13	3	3	4	3	3	3	4	2	3	4
14	5	1	3	5	5	5	5	1	5	4
15	2	4	2	2	3	2	3	3	4	4
16	2	3	3	2	3	3	4	4	4	5
17	1	3	1	1	1	2	1	2	2	3
18	3	4	5	2	5	3	3	2	3	4
19	2	4	5	2	2	2	2	4	3	5
20	2	3	2	3	3	2	3	3	3	4
21	2	3	4	2	3	4	2	2	1	4
22	3	3	3	3	3	2	5	3	3	2
23	2	3	4	2	3	2	3	4	4	1
24	3	3	4	3	4	3	2	3	3	5
25	3	3	4	3	3	3	4	2	3	4
26	5	1	3	5	5	5	5	1	5	4
27	2	4	2	2	3	2	3	3	4	4
28	3	3	3	3	3	2	5	3	3	2
29	2	3	3	2	3	3	4	4	4	5
30	1	3	1	1	1	2	1	2	2	3

**Anexo 11. ANVA para el porcentaje de alcohol**

**Análisis de Varianza para porcentaje de alcohol**

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Efectos principales					
A:T	0.00021983	2	0.000109915	1.14	0.3419
B:%G	0.000163682	2	0.0000818408	0.85	0.4444
Interacciones					
AB	0.000768672	4	0.000192168	1.99	0.1388
Residuos	0.00173571	18	0.0000964281		
Total (corregido)	0.00288789	26			

## Anexo 12. ANVA y pruebas de múltiples rangos para el pH

### Análisis de Varianza para pH

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Efectos principales					
A:T	3.52402	2	1.76201	3659.56	0.0000
B:%G	3.8066	2	1.9033	3953.01	0.0000
Interacciones					
AB	0.480378	4	0.120094	249.43	0.0000
Residuos	0.00866667	18	0.000481481		
Total (corregido)	7.81967	26			

### Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos homogéneos</i>
<b>T9</b>	3	4.15333	X
<b>T8</b>	3	4.37	X
<b>T6</b>	3	4.5	X
<b>T3</b>	3	4.65333	X
<b>T5</b>	3	4.79667	X
<b>T7</b>	3	4.83	X
<b>T4</b>	3	5.2	X
<b>T2</b>	3	5.32	X
<b>T1</b>	3	6.02667	X


<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
T1 - T2	*	0.706667	0.0629291
T1 - T3	*	1.37333	0.0629291
T1 - T4	*	0.826667	0.0629291
T1 - T5	*	1.23	0.0629291
T1 - T6	*	1.52667	0.0629291
T1 - T7	*	1.19667	0.0629291
T1 - T8	*	1.65667	0.0629291
T1 - T9	*	1.87333	0.0629291
T2 - T3	*	0.666667	0.0629291
T2 - T4	*	0.12	0.0629291
T2 - T5	*	0.523333	0.0629291
T2 - T6	*	0.82	0.0629291
T2 - T7	*	0.49	0.0629291
T2 - T8	*	0.95	0.0629291
T2 - T9	*	1.16667	0.0629291
T3 - T4	*	-0.546667	0.0629291
T3 - T5	*	-0.143333	0.0629291


**Continuación método: 95.0 porcentaje Tukey HSD**

<b>Contraste</b>	<b>Sig.</b>	<b>Diferencia</b>	<b>+/- Límites</b>
T3 - T6	*	0.153333	0.0629291
T3 - T7	*	-0.176667	0.0629291
T3 - T8	*	0.283333	0.0629291
T3 - T9	*	0.5	0.0629291
T4 - T5	*	0.403333	0.0629291
T4 - T6	*	0.7	0.0629291
T4 - T7	*	0.37	0.0629291
T4 - T8	*	0.83	0.0629291
T4 - T9	*	1.04667	0.0629291
T5 - T6	*	0.296667	0.0629291
T5 - T7		-0.0333333	0.0629291
T5 - T8	*	0.426667	0.0629291
T5 - T9	*	0.643333	0.0629291
T6 - T7	*	-0.33	0.0629291
T6 - T8	*	0.13	0.0629291
T6 - T9	*	0.346667	0.0629291
T7 - T8	*	0.46	0.0629291
T7 - T9	*	0.676667	0.0629291
T8 - T9	*	0.216667	0.0629291

\* Indica una diferencia significativa.

**Anexo 13.** Informes de laboratorio del análisis de composición proximal de la bebida funcional T3

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, FÍSICAS Y MATEMÁTICAS**  
Av. de la Cultura 733 - Pabellón "C" Of. 106 1er. piso - Telefax: 224831 - Apartado Postal 921 - Cusco Perú

**UNIDAD DE PRESTACIONES DE SERVICIO DE ANÁLISIS QUÍMICO**  
**DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE QUÍMICA**  
**INFORME DE ANÁLISIS** N°0055-19-LAQ

SOLICITANTE: DELISY STEPHANY RODAS HUAMAN  
MUESTRA : KEFIR  
FECHA : 03/13/2019

RESULTADO ANALISIS FISICOQUIMICO:


\*\*\*\*\*

Humedad %	86.90
Proteína %	2.83
Grasa %	3.10
Ceniza %	1.27
Carbohidratos %	5.90
Acidos % (Ac. Láctico)	1.16

\*\*\*\*\*

\* Humedad NTP 202.076  
Proteína NTP 202.077  
Grasa AOAC 10.055  
Ceniza AOAC 942.05  
Acidos NTP 202.078

Cusco, 20 de Marzo 2019

**LABORATORIO QUÍMICO**  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, FÍSICAS Y MATEMÁTICAS  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

**Anexo 14.** ANVA y pruebas de múltiples rangos para levaduras

**Análisis de Varianza para Levaduras**

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Efectos principales					
A:T	1.51453	2	7.57265	54.56	0.0000
B:%G	2.18548	2	1.09274	7.87	0.0035
Interacciones					
AB	2.41066	4	6.02666	4.34	0.0124
Residuos	2.4984	18	1.388		
Total (corregido)	2.22398	26			

**Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD**

	<b>Casos</b>	<b>Media</b>	<b>Grupos homogéneos</b>
T1	3	6960.0	X
T2	3	7106.67	X
T3	3	8153.33	XX
T5	3	8433.33	XXX
T4	3	8733.33	XXX
T7	3	11000.0	XXX
T6	3	11653.3	XXX
T9	3	13466.7	XX
T8	3	15000.0	X

<b>Contraste</b>	<b>Sig.</b>	<b>Diferencia</b>	<b>+/- Límites</b>
T1 - T2		-146.667	3378.75
T1 - T3		-1193.33	3378.75
T1 - T4		-1773.33	3378.75
T1 - T5		-1473.33	3378.75
T1 - T6	*	-4693.33	3378.75
T1 - T7	*	-4040.0	3378.75
T1 - T8	*	-8040.0	3378.75
T1 - T9	*	-6506.67	3378.75
T2 - T3		-1046.67	3378.75
T2 - T4		-1626.67	3378.75
T2 - T5		-1326.67	3378.75
T2 - T6	*	-4546.67	3378.75
T2 - T7	*	-3893.33	3378.75
T2 - T8	*	-7893.33	3378.75
T2 - T9	*	-6360.0	3378.75
T3 - T4		-580.0	3378.75
T3 - T5		-280.0	3378.75

**Continuación método: 95.0 porcentaje Tukey HSD**

<b>Contraste</b>	<b>Sig.</b>	<b>Diferencia</b>	<b>+/- Límites</b>
T3 - T6	*	-3500.0	3378.75
T3 - T7		-2846.67	3378.75
T3 - T8	*	-6846.67	3378.75
T3 - T9	*	-5313.33	3378.75
T4 - T5		300.0	3378.75
T4 - T6		-2920.0	3378.75
T4 - T7		-2266.67	3378.75
T4 - T8	*	-6266.67	3378.75
T4 - T9	*	-4733.33	3378.75
T5 - T6		-3220.0	3378.75
T5 - T7		-2566.67	3378.75
T5 - T8	*	-6566.67	3378.75
T5 - T9	*	-5033.33	3378.75
T6 - T7		653.333	3378.75
T6 - T8		-3346.67	3378.75
T6 - T9		-1813.33	3378.75
T7 - T8	*	-4000.0	3378.75
T7 - T9		-2466.67	3378.75
T8 - T9		1533.33	3378.75

\* Indica una diferencia significativa.



## Anexo 15. ANVA y pruebas de múltiple rangos para el color

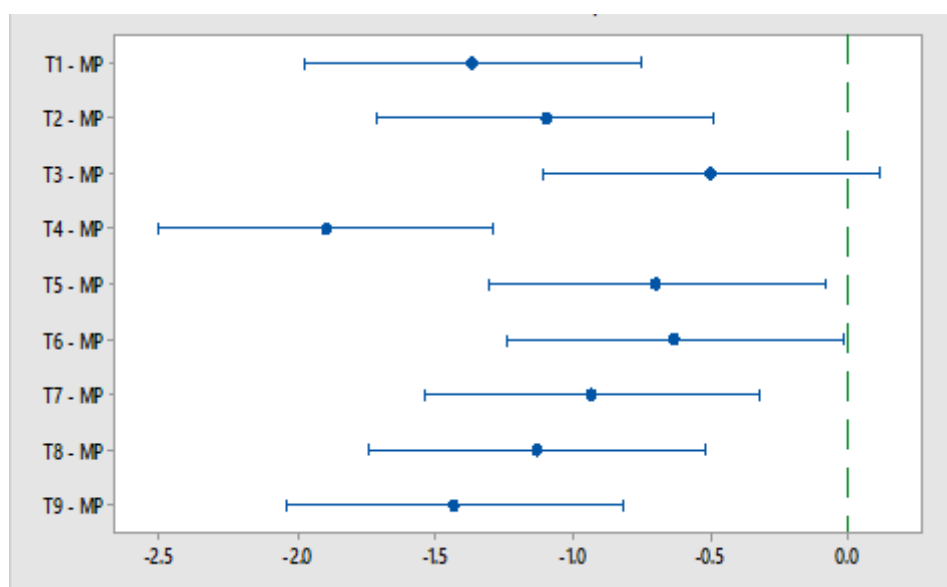
### Análisis de varianza para el Color

<i>Fuente</i>	<i>GL</i>	<i>SC Ajust.</i>	<i>MC. Ajust.</i>	<i>Valor F</i>	<i>Valor p</i>
Factor	9	78.90	8.7663	11.34	0.000
Error	290	224.23	0.7732		
Total	299	303.13			

### Comparaciones múltiples de Dunnett con un control

<b>Factor</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Agrupación</b>
T10 (control)	30	4.200	A
T3	30	3.700	A
T6	30	3.567	
T5	30	3.500	
T7	30	3.267	
T2	30	3.100	
T8	30	3.067	
T1	30	2.833	
T9	30	2.767	
T4	30	2.300	

### ICs simultáneos de 95% de Dunnett



Las medias no etiquetadas con la letra A son significativamente diferentes de la media del nivel de control.

## Anexo 16. ANVA y pruebas de múltiple rangos para el olor

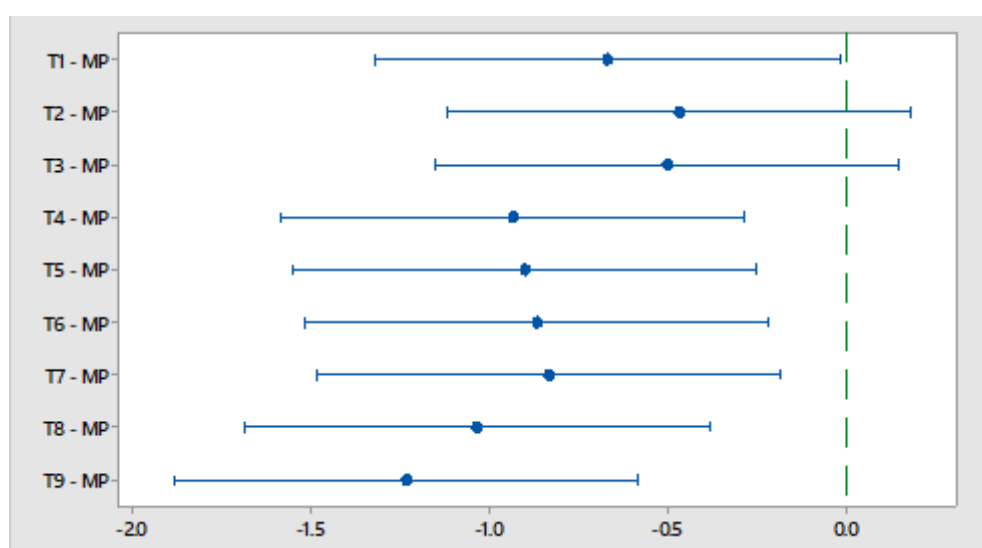
### Análisis de varianza para el Olor

<i>Fuente</i>	<i>GL</i>	<i>SC Ajust.</i>	<i>MC. Ajust.</i>	<i>Valor F</i>	<i>Valor p</i>
Factor	9	33.07	3.6744	4.17	0.000
Error	290	255.77	0.8820		
Total	299	288.84			

### Comparaciones múltiples de Dunnett con un control

<b>Factor</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Agrupación</b>
T10 (control)	30	4.100	A
T2	30	3.633	A
T3	30	3.600	A
T1	30	3.433	
T7	30	3.267	
T6	30	3.233	
T5	30	3.200	
T4	30	3.167	
T8	30	3.067	
T9	30	2.867	

### ICs simultáneos de 95% de Dunnett



Las medias no etiquetadas con la letra A son significativamente diferentes de la media del nivel de control.

## Anexo 17. ANVA y pruebas de múltiple rangos para el sabor

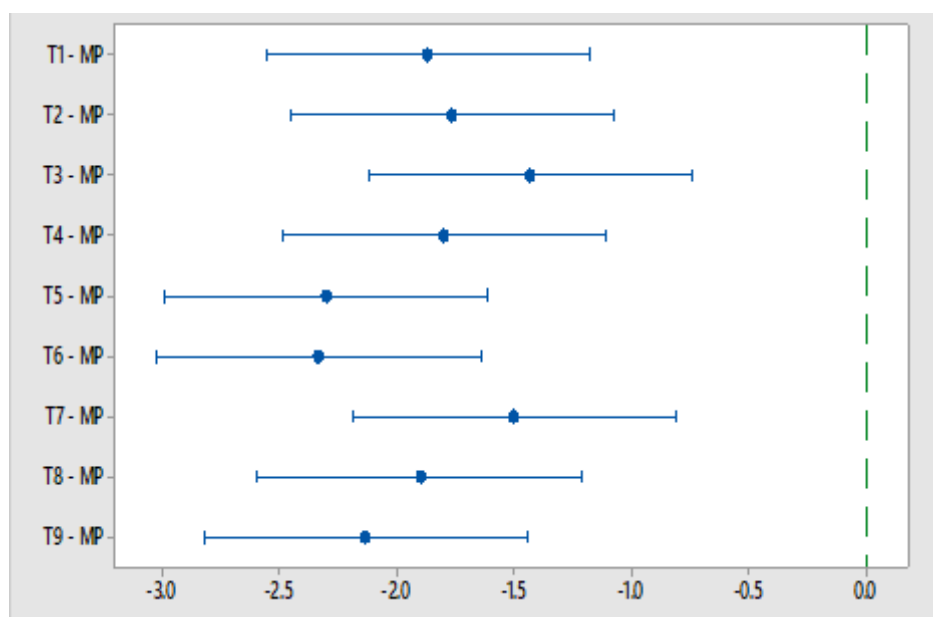
### Análisis de varianza para el Sabor

<i>Fuente</i>	<i>GL</i>	<i>SC Ajust.</i>	<i>MC. Ajust.</i>	<i>Valor F</i>	<i>Valor p</i>
Factor	9	121.0	13.4404	13.56	0.000
Error	290	287.4	0.9909		
Total	299	408.3			

### Comparaciones múltiples de Dunnett con un control

<b>Factor</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Agrupación</b>
T10 (control)	30	4.533	A
T3	30	3.100	
T7	30	3.033	
T2	30	2.767	
T4	30	2.733	
T1	30	2.667	
T8	30	2.633	
T9	30	2.400	
T5	30	2.233	
T6	30	2.200	

### ICs simultáneos de 95% de Dunnett



Las medias no etiquetadas con la letra A son significativamente diferentes de la media del nivel de control.

## Anexo 18. ANVA y pruebas de múltiple rangos para la textura

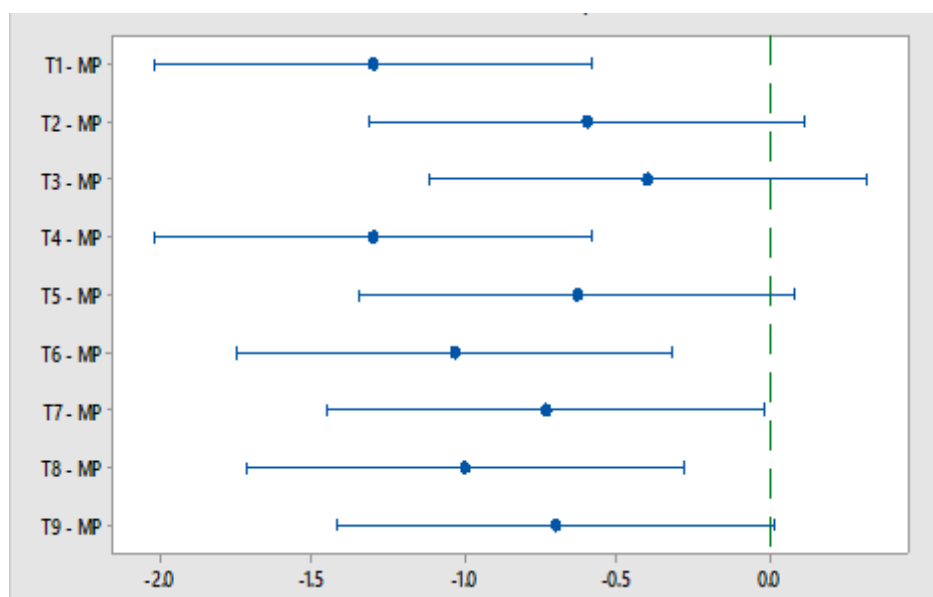
### Análisis de varianza para la Textura

<i>Fuente</i>	<i>GL</i>	<i>SC Ajust.</i>	<i>MC. Ajust.</i>	<i>Valor F</i>	<i>Valor p</i>
Factor	9	44.03	4.892	4.60	0.000
Error	290	308.57	1.064		
Total	299	352.60			

### Comparaciones múltiples de Dunnett con un control

<b>Factor</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Agrupación</b>
T10 (control)	30	3.733	A
T3	30	3.333	A
T2	30	3.133	A
T5	30	3.100	A
T9	30	3.033	A
T7	30	3.000	
T8	30	2.733	
T6	30	2.700	
T4	30	2.433	
T1	30	2.433	

### ICs simultáneos de 95% de Dunnett



Las medias no etiquetadas con la letra A son significativamente diferentes de la media del nivel de control.

**Anexo 19. Imágenes de los análisis preliminares de la leche**



FOTO 01: Pesado de muestra



FOTO 02: Densidad de la leche



FOTO 03: Viración de la leche



FOTO 04: Prueba de alcohol  
"coagulable"

**Anexo 20.** Imágenes de la producción y adaptación de gránulos de kéfir



FOTO 05: Pesado gránulos de kéfir



FOTO 06: Homogenización leche  
Y gránulos



FOTO 07: Incubación bebida funcional



FOTO 08: Obtención bebida  
funcional

**Anexo 21.** Imágenes de elaboración de bebida funcional



FOTO 09: Pesado de muestra



FOTO 10: Homogenización leche  
Y gránulos



FOTO 11: Obtención bebida funcional

**Anexo 22.** Imágenes de determinación del porcentaje de alcohol y pH



FOTO 12: Pesado del Matraz



FOTO 13: Evaporación



FOTO 14: Pesado muestra final



FOTO 15: Análisis de pH



**Anexo 23.** Imágenes de recuento de coliformes totales, hongos y levaduras



FOTO 16: Obtención agar VRBA



FOTO 17: Recuento de colonias



FOTO 18: Siembra en agar VRBA



FOTO 19: Siembra en agar papa dextrosa

**Anexo 24. Imágenes de análisis organoléptico**



FOTO 21: Realización de prueba hedónica

**Anexo 25. Matriz de consistencia**

PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	INDICADORES	METODOLOGÍA
Generales			Entrada/independiente		
¿Cuál es el efecto del porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación en las características fisicoquímicas, microbiológicas y organolépticas de una bebida funcional?	Evaluar el efecto del porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación en las características fisicoquímicas, microbiológicas y organolépticas de una bebida funcional.	El porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación influyen en las características fisicoquímicas, microbiológicas y organolépticas de una bebida funcional.	T° (20, 25 y 30° C) Gránulos de kéfir (5%, 10% y 15%)	Niveles de T° Porcentajes de gránulos de kéfir	Observación
Específicos			Dimensiones		
¿Cuál es el efecto del porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación en las características fisicoquímicas (% de alcohol, pH y composición proximal) de una bebida funcional?	Determinar el efecto del porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación en las características fisicoquímicas (% de alcohol, pH y composición proximal) de una bebida funcional.	El porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación influyen significativamente en las características fisicoquímicas (% de alcohol, pH y composición proximal) de una bebida funcional.	Peso pH Composición proximal	Evaporación Potenciometría %	Gravimetría Potenciómetro Análisis en laboratorio especializado
¿Cuál es el efecto del porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación en las características microbiológicas (recuento de coliformes totales, hongos y levaduras) de una bebida funcional?	Determinar el efecto del porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación en las características microbiológicas (recuento de coliformes totales, hongos y levaduras) de una bebida funcional.	El porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación influyen significativamente en las características microbiológicas (recuento de coliformes totales, hongos y levaduras) de una bebida funcional.	Coliformes Hongos Levaduras	Aparición de UFC	Recuento de colonias
¿Cuál es el efecto del porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación en las características organolépticas (color, olor, sabor y textura) de una bebida funcional?	Determinar el efecto del porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación en las características organolépticas (color, olor, sabor y textura) de una bebida funcional.	El porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación influyen significativamente en las características organolépticas (color, olor, sabor y textura) de una bebida funcional.	Color Olor Sabor Textura	Degustación	Prueba hedónica