

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ingeniería

Departamento de Ingeniería en Ciencias de los Alimentos



Formulación de una bebida simbiótica a partir de arveja china (*Pisum sativum L.*) de descarte

Trabajo de graduación en modalidad de tesis presentado por Haya Elizabeth Cajas Díaz,
para optar al grado académico de Licenciada en Ingeniería en Ciencia de los Alimentos

Guatemala
2024

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ingeniería

Departamento de Ingeniería en Ciencias de los Alimentos

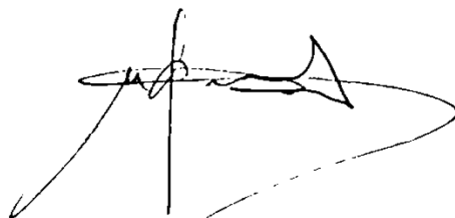


Formulación de una bebida simbiótica a partir de arveja china (*Pisum sativum L.*) de descarte

Trabajo de graduación en modalidad de tesis presentado por Haya Elizabeth Cajas Díaz,
para optar al grado académico de Licenciada en Ingeniería en Ciencia de los Alimentos

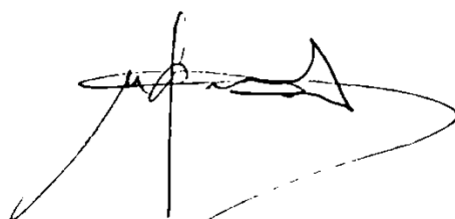
Guatemala
2024

Vo. Bo.

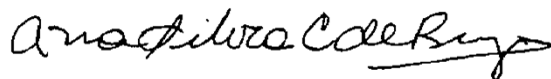


MSc. Víctor Hugo Jiménez Pérez
Asesor

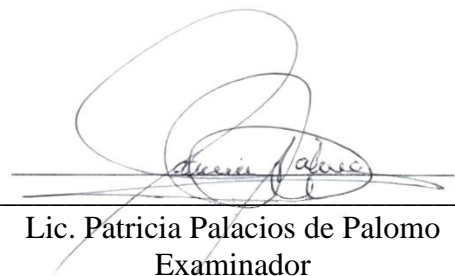
Tribunal examinador:



MSc. Víctor Hugo Jiménez Pérez



Lic. Ana Silvia Colmenares de Ruiz
Examinador



Lic. Patricia Palacios de Palomo
Examinador

Fecha de aprobación: diciembre 4, 2024

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme la fuerza y el discernimiento para cerrar una etapa más en mi vida, por su constante protección y por bendecirme con las personas y las oportunidades que me han guiado a lo largo de este camino.

A mi mamá, María Díaz, cuyo incansable esfuerzo me permitió seguir adelante con mis estudios universitarios. Gracias por ser mi pilar, mi amiga y confidente, por acompañarme en cada paso de este recorrido, celebrando mis éxitos y sosteniéndome en las noches de desvelos.

A mi papá, William Cajas, por sus valiosos conocimientos y sus profundas lecciones de vida, que me han enseñado a observar mi realidad como a través de un prisma, con todos sus colores, luces y sombras. Su sabiduría ha sido una guía constante en mi vida.

A Víctor Hugo Jiménez, por su asesoría en este trabajo de graduación. Más allá de su papel como guía académico, agradezco profundamente su capacidad para compartir con esmero las maravillas de la microbiología, inspirándome a encontrar en ella la misma pasión.

A Ana Silvia Colmenares, por su constante apoyo, comprensión y motivación durante estos cinco años de carrera. Su confianza en mí ha sido fundamental para mantenerme firme en los momentos más desafiantes.

A Hugo Oliveros, quien se ha convertido en un verdadero amigo y un pilar de apoyo más allá de su rol docente. Agradezco sus palabras de aliento en los momentos difíciles y su habilidad para compartir las alegrías, siempre encontrando formas de potenciarlas.

A Brandon Aguilar, quien ha sido una fuente inagotable de apoyo y motivación. Gracias por caminar a mi lado, por recordarme siempre perseguir mis sueños con valentía y por llenar mi vida de amor y confianza, brindándome la fuerza para seguir adelante sin temor.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS.....	v
LISTADO DE CUADROS.....	viii
LISTADO DE FIGURAS.....	x
LISTADO DE ANEXOS	xi
RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT	xiii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES.....	2
III. JUSTIFICACIÓN.....	4
IV. OBJETIVOS.....	6
A. Objetivo general	6
B. Objetivos específicos.....	6
V. MARCO TEÓRICO	7
A. Generalidades de la arveja china	7
B. Composición química y nutricional de la arveja china.....	7
C. Producción de arveja china en Guatemala.....	8
D. Defectos y daños en arveja china	9
E. Uso de arveja china en la industria de alimentos.....	12
F. Prebióticos y su influencia en la industria alimentaria	13
G. Probióticos.....	14
1. Mecanismo de acción de los probióticos.....	17
2. Influencia en la industria de alimentos	17
H. Posbióticos y paraprobióticos.....	20
I. Alimentos simbióticos	21
VI. METODOLOGÍA.....	22
A. Preparación de la base fermentada de arveja china (<i>Pisum sativum L.</i>) para la bebida simbiótica	22
1. Establecimiento de los parámetros de trabajo	22
2. Acondicionamiento de la arveja china fresca y harina de arveja	22
3. Preparación de las soluciones de arveja	22

4.	Evaluación del crecimiento de microorganismos en la base fermentada con arveja china	23
5.	Selección de la cepa probiótica para la formulación de la bebida.....	23
B.	Aplicación de la base fermentada para la formulación de la bebida probiótica	23
1.	Formulación de la bebida simbiótica.....	23
2.	Evaluación sensorial	24
C.	Determinación de la composición nutricional y análisis fisicoquímicos	25
1.	Humedad.....	25
2.	Cenizas	25
3.	Grasa.....	25
4.	Proteína.....	25
5.	Carbohidratos	26
6.	Fibra dietética	26
7.	pH	26
8.	Color	26
D.	Determinación de la vida de anaquel y crecimiento de los microorganismos.....	26
E.	Análisis estadístico	26
VII.	RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	27
A.	Preparación de la base fermentada de arveja china (<i>Pisum sativum L.</i>) para la bebida probiótica.....	27
B.	Aplicación de la base fermentada para la formulación de la bebida probiótica	32
C.	Determinación de la composición proximal y análisis fisicoquímicos	44
D.	Determinación de la vida de anaquel y supervivencia de los microorganismos	47
VIII.	CONCLUSIONES.....	52
IX.	RECOMENDACIONES	53
X.	REFERENCIAS	54
XI.	ANEXOS	60
A.	Preparación de la base fermentada de arveja china (<i>Pisum sativum L.</i>) para la bebida simbiótica	60
B.	Aplicación de la base fermentada para la formulación de la bebida probiótica	61
C.	Determinación de la composición nutricional y análisis fisicoquímicos	104
D.	Determinación de la vida de anaquel y crecimiento de los microorganismos.....	106

LISTADO DE CUADROS

Cuadro 1. <i>Análisis proximal de harina de dos variedades de arveja china en base seca (en g %)</i>	8
Cuadro 2. <i>Clasificación por empacadora F&V Selectos, S. A., Santa María Cauqué, Sacatepéquez</i>	11
Cuadro 3. <i>Causas de rechazo después de cada etapa en Santa María Cauqué, Sacatepéquez</i>	12
Cuadro 4. <i>Clasificación por empacadora F&V Selectos, S.A. y Julio Alquijay, productor del área de Patzún, Chimaltenango</i>	12
Cuadro 5. <i>Causas de rechazo después de cada etapa en Patzún, Chimaltenango</i>	12
Cuadro 6. <i>Ventajas de los paraprobióticos frente a los probióticos</i>	20
Cuadro 7. <i>Matriz de la formulación para la bebida probiótica utilizando la concentración de base fermentada de arveja china como variable</i>	24
Cuadro 8. <i>Codificación de las muestras para evaluación de vida de anaquel sensorial ...</i>	24
Cuadro 9. <i>Promedio y desviación estándar para las pruebas de las soluciones de arveja china fresca</i>	28
Cuadro 10. <i>Estimación del contenido de harina de arveja china en la solución</i>	29
Cuadro 11. <i>Resultados de la fermentación de la solución de arveja china fresca</i>	29
Cuadro 12. <i>Resultados de la fermentación de la solución con harina de arveja china</i>	31
Cuadro 13. <i>Resumen de resultados para la aceptación general en las tres formulaciones de la bebida probiótica</i>	34
Cuadro 14. <i>Media y desviación estándar para la aceptación general de las formulaciones de la bebida probiótica</i>	35
Cuadro 15. <i>Media y desviación estándar para la aceptación del aroma en las formulaciones de la bebida probiótica</i>	36
Cuadro 16. <i>Resumen del análisis de varianza de dos factores para la aceptación del aroma en las bebidas probióticas</i>	36
Cuadro 17. <i>Media y desviación estándar para la aceptación del dulzor en las formulaciones de la bebida probiótica</i>	37
Cuadro 18. <i>Resumen del análisis de varianza de dos factores para la percepción del dulzor en las bebidas probióticas</i>	37
Cuadro 19. <i>Media y desviación estándar para la aceptación del color en las formulaciones de la bebida probiótica</i>	38
Cuadro 20. <i>Resumen del análisis de varianza de dos factores para la percepción del color en las bebidas probióticas</i>	38
Cuadro 21. <i>Media y desviación estándar para la aceptación de la acidez en las formulaciones de la bebida probiótica</i>	39
Cuadro 22. <i>Resumen del análisis de varianza de dos factores para la percepción de la acidez en las bebidas probióticas</i>	39
Cuadro 23. <i>Media y desviación estándar para la aceptación de la consistencia en las formulaciones de la bebida probiótica</i>	40

Cuadro 24. <i>Resumen del análisis de varianza de dos factores para la percepción de la consistencia en las bebidas probióticas</i>	40
Cuadro 25. <i>Promedio y desviación estándar de los resultados del análisis proximal a la bebida probiótica en base húmeda</i>	45
Cuadro 26. <i>Promedio y desviación estándar de análisis fisicoquímicos de la bebida probiótica</i>	46
Cuadro 27. <i>Cambios en el color de la bebida probiótica durante el almacenamiento en refrigeración</i>	48
Cuadro 28. <i>Tiempo de vida útil estimado para la bebida probiótica por el método de orden de reacción</i>	50
Cuadro 29. <i>Recuento de mohos y levaduras durante un mes</i>	51

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1. <i>Distribución de la producción nacional de arveja china</i>	9
Figura 2. <i>Guía Frutesa para a identificación de defectos daños en la arveja china</i>	10
Figura 3. <i>Caracterización de problemas de calidad encontrados en Frutesa</i>	11
Figura 4. <i>Componentes prebióticos según el nivel de evidencia de los efectos sobre la salud: FOS, fructooligosacáridos, GOS, galactooligosacáridos, XOS, xilooligosacáridos, IMO, isomaltooligosacáridos, RFO, rafinosa</i>	14
Figura 5. <i>Criterios de selección para cepas probióticas</i>	15
Figura 6. <i>Ejemplos de cepas microbianas que se utilizan comercialmente como probióticos</i>	16
Figura 7. <i>Microorganismos actuales utilizados como probióticos</i>	17
Figura 8. <i>Inclusión de probióticos en matrices vegetales</i>	19
Figura 9. <i>Posbióticos y prebióticos y sus fuentes naturales</i>	21
Figura 10. <i>Resumen de atributos destacados durante el grupo focal para la formulación con 30 % de base fermentada y Lactobacillus acidophilus ATCC 4356</i>	33
Figura 11. <i>Resumen de atributos destacados durante el grupo focal para la formulación con 30 % de base fermentada y Lacticaseibacillus paracasei ATCC 334</i>	33
Figura 12. <i>Distribución de resultados para la prueba de aceptación general</i>	41
Figura 13. <i>Distribución de resultados para la prueba de aceptación de aroma</i>	41
Figura 14. <i>Distribución de resultados para la prueba de aceptación del dulzor</i>	42
Figura 15. <i>Distribución de resultados para la prueba de aceptación del color</i>	42
Figura 16. <i>Distribución de resultados para la prueba de aceptación de la acidez</i>	43
Figura 17. <i>Distribución de resultados para la prueba de aceptación de la consistencia</i> ...	43
Figura 18. <i>Preferencia de las formulaciones de la bebida probiótica</i>	44
Figura 19. <i>Gráfica de primer orden de reacción para pH</i>	48
Figura 20. <i>Gráfica de orden cero de reacción para luminosidad (L*)</i>	48
Figura 21. <i>Comportamiento de Lactobacillus acidophilus ATCC 4356 en la bebida durante el almacenamiento</i>	50

LISTADO DE ANEXOS

Anexo 1. Pruebas para la determinación del contenido de agua en la solución de arveja china fresca	60
Anexo 2. Acondicionamiento de las arvejas para elaborar harina.....	60
Anexo 3. Preparación de soluciones de arveja china fresca.....	61
Anexo 4. Recuento en placas con agar MRS de las cepas en los dos tipos de sustratos.....	61
Anexo 5. Escalonamiento de la base fermentada y primera formulación.....	62
Anexo 6. Guía de preguntas para el grupo focal	62
Anexo 7. Resumen de respuestas para grupo focal para la formulación con base fermentada al 30 % con Lactobacillus acidophilus ATCC 4356	63
Anexo 8. Resumen de respuestas para grupo focal para la formulación con base fermentada al 30 % con Lacticaseibacillus paracasei ATCC 334.....	64
Anexo 9. Preparación de muestras para panel sensorial.....	65
Anexo 10. Hoja maestra para el panel sensorial de bebidas probióticas	66
Anexo 11. Cuestionario de la evaluación sensorial en Google Forms	68
Anexo 12. Proporción de edades de los encuestados	73
Anexo 13. Código de R para ANOVA de dos factores en aceptación general y atributos de las bebidas probióticas	73
Anexo 14. Código de R para el ANOVA de la aceptación general y atributos de las bebidas para consumidores frecuentes de productos funcionales.....	94
Anexo 15. Código de R para el ANOVA de la aceptación general y atributos de las bebidas para consumidores inusuales de productos funcionales	99
Anexo 16. Resultados de contenido de humedad para muestras liofilizadas de la bebida probiótica	104
Anexo 17. Resultados de contenido de cenizas para muestras de la bebida probiótica ...	104
Anexo 18. Resultados de contenido de grasa para muestras de la bebida probiótica	104
Anexo 19. Resultados de contenido de proteína para muestras de la bebida probiótica .	104
Anexo 20. Resultados de residuos sólidos para determinación de fibra dietética	104
Anexo 21. Resultados de proteína para los residuos sólidos en determinación de fibra dietética	105
Anexo 22. Resultados de ceniza para los residuos sólidos en determinación de fibra dietética	105
Anexo 23. Cálculo de fibra dietética a través de la hoja de datos del kit Megazyme	105
Anexo 24. Cálculo para la determinación de carbohidratos totales.....	106
Anexo 25. Promedio y desviación estándar de los resultados del análisis proximal a la bebida probiótica en base húmeda.....	106
Anexo 26. Resultados de cambios en pH de la bebida probiótica almacenada en refrigeración.....	106
Anexo 27. Variación de las coordenadas rojo/verde (a^*) de la bebida probiótica almacenada en refrigeración.....	106
Anexo 28. Variación de las coordenadas amarillo/azul (b^*) de la bebida probiótica almacenada en refrigeración.....	107

Anexo 29. <i>Determinación del color en muestra desviada por cambios en el secado de la harina de arveja china.....</i>	107
Anexo 30. <i>Resultados en el recuento de Lactobacillus acidophilus ATCC 4356 en la bebida probiótica almacenada en refrigeración.....</i>	107

RESUMEN

Actualmente, entre el 25 y 30 % de la arveja china producida en Guatemala es descartada por no cumplir los estándares de exportación. Gran parte de la materia de descarte no representan una contaminación de riesgo para el consumidor, por lo que es necesario buscar soluciones innovadoras para reducir el desperdicio alimentario. Este trabajo tiene como objetivo formular una bebida probiótica aprovechando la arveja china de descarte, evaluando su viabilidad como sustrato fermentable. Se compararon dos sustratos (harina de arveja china y arveja fresca) utilizando siete cepas probióticas, siendo *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 la cepa que mejor se adaptó. Tras evaluar formulaciones con 30, 40 y 50 % (p/p) de base fermentada, la formulación con 30 % (p/p) fue la mejor aceptada sensorialmente. Los evaluadores destacaron los aromas frutales obtenidos durante la fermentación. En términos nutricionales, la bebida mostró un contenido alto de proteína y fibra dietética lo que, unido al contenido de probióticos activos, le dio un atractivo como alimento funcional. El análisis de estabilidad determinó que la bebida tiene una vida útil de cinco semanas cuando se almacena a 4 °C, siendo el pH y la luminosidad (L*) los factores críticos para su evaluación. Esto sugiere que la arveja china de descarte tiene un alto potencial para el desarrollo de productos innovadores, contribuyendo a la reducción del desperdicio alimentario y al diseño de productos con valor agregado.

ABSTRACT

Currently, between 25 % and 30 % of snow peas produced in Guatemala are discarded for not meeting export quality standards. A significant portion of this discarded material does not pose a contamination risk to consumers, making it necessary to seek innovative solutions to reduce food waste. This study aims to formulate a probiotic beverage using discarded snow peas, evaluating their viability as a fermentable substrate. Two substrates (snow pea flour and fresh snow peas) were compared using seven probiotic strains, with *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 being the most adaptable. After evaluating formulations with 30, 40, and 50 % (w/w) fermented base, the 30 % (w/w) formulation was the best accepted in sensory evaluations. Panelists highlighted the fruity aromas developed during fermentation. Nutritionally, the beverage showed a high content of protein and dietary fiber, which, combined with active probiotics, made it appealing as a functional food. Stability analysis determined that the beverage has a shelf life of five weeks when stored at 4 °C, with pH and luminosity (L*) being the critical factors for quality assessment. These results suggest that discarded snow peas have significant potential for developing innovative products, contributing to the reduction of food waste and the creation of value-added products.

I. INTRODUCCIÓN

La arveja china (*Pisum sativum L.*) es un cultivo importante para la economía guatemalteca, exportándose alrededor de 70 millones de libras anualmente. Sin embargo, entre el 25 y 30 % de la producción es descartada por no cumplir los estándares de calidad exigidos para la exportación. Debido a que este producto no es consumido localmente en grandes cantidades, se hace necesario buscar alternativas innovadoras para aprovechar la arveja china descartada y así reducir el desperdicio alimentario (Bressani et al., 2019; Agexport, 2024). Este trabajo tiene como objetivo formular una bebida simbiótica a partir de la arveja china de descarte, contribuyendo no solo a la reducción del desperdicio alimentario, sino también al desarrollo de un alimento funcional que aporte beneficios nutricionales a la población.

La arveja china posee un perfil nutricional valioso, que incluye proteínas y fibra dietética, lo cual la convierte en un candidato ideal para ser transformado en un producto fermentado de alto valor agregado. Recientes estudios han explorado el uso de harina de arveja china en la elaboración de productos de panificación y como alimento para animales. Además, la proteína aislada de esta leguminosa ha mostrado potencial como ingrediente tecnológico (Blandón, 2024). La importancia de reducir el desperdicio alimentario en Guatemala es clave, ya que el sector agropecuario es uno de los pilares de la economía nacional. El 55 % de la población depende de la agricultura para su sustento, tanto para autoconsumo como para la comercialización en mercados locales, nacionales y para la exportación (FAO, 2024).

Esta investigación se enfocó en la formulación de una bebida simbiótica a partir de arveja china de descarte, suplementada con probióticos, con el fin de crear un producto saludable y nutritivo. Se compararon dos sustratos (arveja china fresca y harina de arveja) y se utilizaron siete cepas probióticas para desarrollar una base fermentada concentrada. Se evaluaron las características fisicoquímicas, nutricionales y sensoriales de la bebida resultante. Finalmente, se determinaron la estabilidad y la vida de anaquel de la bebida con probióticos activos para analizar su aceptación final. Esto, con el fin de proponer una solución al problema del desperdicio de arveja china y responder a las tendencias actuales en la industria alimentaria de desarrollar productos a base de plantas que favorezcan la salud digestiva.

II. ANTECEDENTES

En 2017, Wang et al. condujeron una investigación en la que se desarrolló una bebida simbiótica a base de avena para analizar sus propiedades fisicoquímicas y la capacidad de supervivencia de la cepa probiótica. En esta investigación se fermentó una base mezclando harina de avena integral (10 %, p/p) gelatinizada a 80 °C durante 1 h, se esterilizó a 121 °C durante 15 min y luego se enfrió a 40 °C. Se incubó con una cepa comercial de *Lactobacillus plantarum* (0,003 %, p/p) y se dejó fermentar a 30 °C durante 12 h. La bebida se formuló con la base de avena fermentada (10 % p/p), sacarosa (6 % p/p), ácido cítrico (0.06 % p/p), λ-carragenina (0.4 % p/p), pectina (0.2 % p/p) e inulina (1 % p/p). La bebida descrita anteriormente fue seleccionada como la mejor entre varias muestras preparadas. En la investigación utilizaron diferentes variables para evaluar la mejor combinación que resultara en una bebida con mejores características y aceptación general.

Se evaluó el tipo de cultivo iniciador, la proporción de cultivo iniciador, tiempo de incubación a 30 °C, y temperatura de incubación durante 12 horas. La cepa que brinda mejores características a la bebida final fue *Lactobacillus plantarum*. Con la bebida formulada, se realizaron análisis fisicoquímicos, determinación de estabilidad durante el almacenamiento, evaluación sensorial de aceptación, vida de anaquel, capacidad de supervivencia de la cepa probiótica y recuento de levaduras, moho y coliformes totales. La composición final de la bebida presentó 0.58 % de proteína, 0.37 % de grasa, 10.70 % de carbohidratos y 0.70 % de fibra dietética. En esta bebida, la evaluación sensorial se condujo con estudiantes entrenados del Departamento de Ciencias de Alimentosa de la Universidad de Jilin. La aceptación general fue de 9 utilizando una escala completa de 10 puntos, de “no me gusta nada” a “me gusta mucho”. La puntuación se redujo a 7 tras las primeras 3 semanas de almacenamiento. La investigación concluyó con que la bebida simbiótica a partir de avena fue un producto que presentó características óptimas para consumirse como alternativa a bebidas lácteas con un contenido bajo en grasa y alto en fibra dietética (Wang et al., 2017).

En 2020, El-Youssef et al. estudiaron las mejoras sensoriales a un producto hecho con proteína de arveja utilizando bacterias ácido-lácticas (BAL) y levaduras. La importancia del estudio resalta debido a que cada vez más, el consumidor demanda productos a base de plantas, sin embargo, estos pueden presentar sabores indeseables como “verdes”, “afrijolados”, “rancios” y otros. El proceso de fermentación no solo provee beneficios sinérgicos que ayudan a mejorar las cualidades del alimento, también tienen un impacto a la salud de los consumidores y, principalmente para el estudio, permite modificar la percepción de sabores afrijolados y verdes que imparte la arveja.

El estudio analizó el efecto en conjunto del uso de BAL y levaduras, específicamente, una mezcla comercial de BAL, marca VEGE 047 LYO. Esta mezcla contenía *Lactobacillus acidophilus* NCFM®, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, and *Bifidobacterium lactis* HN019. Se utilizaron como levaduras *Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces marxianus*, *Torulaspota delbrueckii*. Se inocularon cuatro soluciones de proteína de arveja y sacarosa con diferentes combinaciones entre la mezcla y una levadura. Se redujo significativamente los aromas asociados a leguminosas, aromas verdes y vegetales, en presencia de levaduras. En las cuatro muestras se alcanzó la eliminación de las moléculas asociadas a aromas y sabores indeseables, principalmente aldehídos, cetonas y furanos.

Deziderio, de Souza, Kamimura y Petrus (2023) de la Universidad de Sao Paulo, Brasil, desarrollaron y caracterizaron bebidas fermentadas de origen vegetal. Se utilizaron cinco fuentes de materia cruda: avena, arroz, almendras, nuez de Brasil y soya, las cuales fueron comparadas ante una muestra control que utilizó leche entera de vaca UHT. Se inoculó con una mezcla de bacterias ácido-lácticas con nombre comercial BioRich™, el cual contiene cultivos de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* LA-5® (1×10^6 UFC g⁻¹) y *Bifidobacterium* BB-12 (1×10^6 UFC g⁻¹) liofilizados. Un grupo de pruebas se realizaron con los extractos pasteurizados de la materia vegetal y otro con estos extractos a los que se les ajustó el contenido de sólidos solubles a 4.0 °Brix; el proceso de incubación se realizó a 37 °C durante 12 horas.

Los extractos vegetales presentaron un menor valor de acidez titulable a la muestra control la cual, para la legislación brasileña, cumple con estar dentro de un rango de 0.6 y 2 g de ácido láctico/100 mL. Los extractos que alcanzaron valores más altos de acidez tras la fermentación fueron los de soya, almendra y nuez de Brasil. Los extractos de soya y nuez de Brasil, con y sin ajuste de sólidos solubles, también fueron los que presentaron un recuento celular mayor tras el almacenamiento. Se encontró que los extractos en los que el contenido de sólidos solubles se ajustó a 4.0 °Brix presentaron variaciones significativas en sus características fisicoquímicas tras la fermentación. La viabilidad de bacterias ácido-lácticas fue satisfactoria para los fermentados de almendra, nuez de Brasil y soya a los que no se ajustó el contenido de sólidos; y a los extractos de arroz y nuez de Brasil fermentados a los que se llevó a 4.0 °Brix. Este ajuste no influyó la velocidad de desarrollo y estabilidad de las bacterias. Con ello, lograron demostrar que es posible reemplazar la leche con extractos solubles de plantas, pues ofrecen un buen potencial en el desarrollo de bebidas fermentadas funcionales.

El estudio por Pei et al. (2022) exploraron cómo la fermentación con *Lactobacillus rhamnosus* L08 puede transformar la harina de arveja, conocida por su alto contenido de proteínas, pero limitada por su sabor característico "a frijol". El procedimiento consistió en moler arvejas, esterilizar la harina y mezclarla con agua desionizada en una concentración del 20 % (p/v). Luego, se inoculó un 3 % (v/v) del cultivo de bacterias *L. rhamnosus* L08 y se incubó a 37 °C durante 12 horas, en agitación constante. Durante este tiempo, se monitorearon parámetros clave como el pH, el recuento bacteriano y el grado de hidrólisis proteica.

Se observó un incremento en el contenido total de aminoácidos esenciales, mejorando el valor nutricional de la harina. Además, se redujeron significativamente compuestos volátiles responsables de olores desagradables, como nonanal, decanal, octanal, 1-hexanol y 2-etil-1-hexanol, mientras que se generaron nuevos compuestos como ésteres, que aportaron aromas frutales y florales. Este cambio en el perfil de compuestos volátiles no solo mejoró el aroma, sino también enmascaró los sabores no deseados, haciéndola más aceptable sensorialmente. Sin embargo, propiedades funcionales como la solubilidad y la capacidad de formación de espuma disminuyeron, aunque la estabilidad de las emulsiones mejoró, debido a cambios en la estructura proteica durante la fermentación. La fermentación con *Lactobacillus rhamnosus* L08 demostró ser una herramienta eficaz para mejorar la calidad sensorial, funcional y nutricional de la harina de arveja, destacándola como un ingrediente prometedor para alimentos funcionales.

III. JUSTIFICACIÓN

La arveja china (*Pisum sativum L.*) ha resaltado como un recurso altamente valioso para Guatemala y su economía, pues representa una parte significativa en la producción nacional y que se dirige a mercados internacionales importantes como la Unión Europea y Estados Unidos. El país exporta 34,000 toneladas de arveja al año, a pesar de ello, se tiene una cantidad de este recurso que no alcanza los estándares de calidad para exportación y que no es consumida localmente debido a que no es parte de la cultura alimentaria, por lo que ha surgido el interés en la investigación de su aprovechamiento para reducir los desperdicios (Blandón, 2024; Bressani et al., 2019). Desde este punto de vista, las investigaciones en la arveja china han permitido conocer sus características, propiedades fisicoquímicas y funcionales como ingrediente tecnológico.

Recientemente, se encontraron aplicaciones de la proteína de arveja china en la industria, la cual tiene características como emulsificante y, a su vez, la proteína de arveja china puede utilizarse como suplemento proteico en bebidas o batidos, lo que aporta a la innovación y desarrollo de nuevos productos (Blandón, 2024). Estudios adicionales mencionan que el contenido nutricional de la arveja china puede aportar beneficios a la dieta pues contiene 25.3 % de proteína, 56.8 % de carbohidratos totales y 6.7 % de fibra cruda, con un 12.0 % de fibra dietética total (Bressani et al., 2019).

Un espacio para explotar el potencial de la arveja china y que se ha explorado muy poco es en el mercado de jugos. Diversos análisis de tendencias en este mercado indican que los consumidores están en búsqueda de productos naturales como jugos y bebidas en polvo que sean sustentables, amigables con el medio ambiente, mientras les permita nutrirse, tengan un beneficio funcional y sean convenientes para su uso. A su vez, los consumidores han dado importancia a los alimentos orgánicos pues se perciben como más saludables en general (Döhler, 2019). Adicionalmente, se ha visto una creciente demanda de productos a base de plantas como bebidas que sustituyan lácteos y sus principales aplicaciones en 2018 fueron para bebidas simples, bebidas funcionales, postres fermentados, helados, bebidas fermentadas y jugos (Döhler, 2019).

El crecimiento de alimentos funcionales ha permitido encontrar una nueva definición para ellos (Appleton, 2019). Actualmente, un “alimento funcional” es definido como “cualquier alimento o ingrediente alimentario que pueda proporcionar beneficios para la salud más allá de los nutrientes tradicionales que contiene” (Myeong et al., 2010). Las bebidas tipo *shots* o *sips* son bebidas funcionales que han presentado un crecimiento acelerado. Diversas marcas han explorado este sector de las bebidas para ofrecer al mercado bebidas enfocadas a potenciar beneficios específicos a la salud en pequeñas porciones. Estos productos se enfocan en satisfacer las necesidades de los consumidores de productos prácticos que se adapten a las rutinas aceleradas y, a su vez, productos que incorporan bienestar diario *on-the-go* (Appleton, 2019).

En la misma línea, otro mercado que ha ido en crecimiento en los últimos años ha sido en productos con probióticos. Los probióticos son un grupo de microorganismos que viven en el tracto gastrointestinal y que tienen implicaciones positivas en la salud de las personas (Olvera et al., 2021). En años recientes ha aumentado la cantidad de productos con

probióticos tanto en niños como en adolescentes y adultos, debido a que promueven la salud intestinal y han demostrado beneficios para tratar problemas gastrointestinales y alergias (Játiva et al., 2021). Por su parte, los prebióticos son el sustrato que, selectivamente, utilizan los microorganismos y producen beneficios a la salud (Olvera et al., 2021). Generalmente, los prebióticos son un grupo de carbohidratos y estos no pueden ser digeridos o absorbidos por el tracto digestivo, pero promueven el crecimiento de los microorganismos probióticos (Wang et al., 2017). Por ello, surge la necesidad de desarrollar alimentos simbióticos a base de plantas, como alternativa a productos lácteos que puedan causar alergias, que atiendan las demandas de los consumidores en la búsqueda de alimentos que sean de beneficio para su salud.

En Guatemala, se estima que 70 millones de libras de arveja china se exporta al mundo, en donde Guatemala alcanza 11 millones de hectáreas dedicadas al cultivo de vegetales para exportación (Agexport, 2024). Por ello, el excedente no apto para exportación es tema de suma importancia con el fin de alcanzar los Objetivos de Desarrollo Sostenible. Este tema abarca específicamente con el objetivo 12: producción y consumo responsables (ONU, 2024). Esta investigación busca proponer una alternativa para el aprovechamiento de arveja china de descarte para elaborar una bebida probiótica que posea características nutricionales óptimas para complementar la dieta de jóvenes y adultos. Con ello, se buscará contribuir al alcance de la meta 12.5 del objetivo indicado: “reducir considerablemente la generación de desechos mediante actividades de prevención, reducción, reciclado y reutilización” (ONU, 2024).

IV. OBJETIVOS

A. Objetivo general

1. Formular una bebida probiótica a partir de arveja china (*Pisum sativum L.*) de descarte, evaluando su viabilidad como sustrato fermentable para aprovechar sus propiedades nutricionales.

B. Objetivos específicos

1. Estudiar la viabilidad del uso de arveja china de descarte, fresca y en harina, como sustrato fermentable para el crecimiento de una cepa probiótica.
2. Desarrollar la formulación de una bebida probiótica a partir de la combinación del mejor sustrato y cepa probiótica.
3. Determinar la mejor formulación de la bebida probiótica mediante análisis sensorial en un contexto de evaluación de aceptación y características organolépticas.
4. Analizar la estabilidad de la bebida probiótica a través de un estudio de vida útil en condiciones de almacenamiento refrigerado, considerando cambios fisicoquímicos, microbiológicos y sensoriales.

V. MARCO TEÓRICO

A. Generalidades de la arveja china

La arveja china (*Pisum sativum L.*) se conoce también como guisante o chícharo. Es una leguminosa originaria del mediterráneo y África Occidental (Calderón et al., 2000), sin embargo, otros autores indican que proviene de Asia y de las montañas del Himalaya (Bressani et al., 2019). Esta se cultiva para el consumo humano y crece alrededor del mundo, extensamente en el norte de Estados Unidos, Europa, Canadá, Rusia y China. Se caracteriza por un atractivo sabor y abundancia de nutrientes, por lo que se consumen las vainas y semillas tiernas como vegetal.

Es una leguminosa importante debido a su alto contenido en fitonutrientes, donde se incluyen aminoácidos, fibras insolubles y vitaminas (Li, Wang, et al., 2022). Existen variedades y dentro de las más populares se encuentra la Oregon Sugar Pod II (enana) la cual se caracteriza por resistencia y tolerancia a diferentes enfermedades. Otra variedad conocida es la Mammoth Melting Sugar (gigante) y se caracteriza por ser sumamente productiva y por dar vainas grandes aún sin fibra (Calderón et al., 2000).

El cultivo pasa por etapas fenológicas previo a ser cosechada para el consumo. En la primera etapa se da la germinación e inicia desde que se planta la semilla en la tierra, la cual debe crecer con suficiente humedad. Los factores que impactan en el tiempo de crecimiento son el tipo de suelo, la humedad y la profundidad de la siembra, pero en promedio se espera que 5 días tras la siembra aparezca la plántula. La siguiente etapa es de desarrollo vegetativo, el cual varía dependiendo del hábito de crecimiento (enana o gigante), sin embargo, se espera que la etapa dure entre 55 a 60 días tras la siembra.

Seguido al desarrollo vegetativo, inicia la floración para su posterior cosecha. Las variedades enanas inician floración a los 55 días y la etapa dura 30 días donde la cosecha es paralela pues, la planta sigue floreando. Las variedades gigantes florecen a los 60 días y dura 50 días. En promedio, el tiempo transcurrido entre la floración hasta que la vaina cumple con los parámetros para cosechar, es de 9 a 11 días (Calderón et al., 2000).

La planta tiene hábitos trepadores y, dependiendo de la variedad, la altura puede variar entre 0.50 m. y 1.75 m. o más. Dependiendo del tamaño promedio alcanzado, así se puede definir como de hábito determinado (enana), o bien, de hábito indeterminado (gigante), siendo las primeras de un tamaño inferior a un metro; las plantas de hábito gigante sobrepasan el metro (Calderón et al., 2000). La planta es adaptada al clima templado, a frío y poco resistente a sequías, pero su desarrollo óptimo se da en un clima templado-frío (Chumil, 2016)

B. Composición química y nutricional de la arveja china

La arveja china tiene una composición de 88 % de agua y, en base seca, el contenido de proteína es similar al frijol común (25 %), aproximadamente 57 % de carbohidratos y un alto contenido de fibra dietética (INCAP, 1996). Un análisis más reciente fue elaborado por

parte de Bressani et al. (2019), quienes determinaron la composición química y nutricional de la arveja china de dos variedades: Oregon Sugar Pod II (enana) y Mammoth Melting Sugar -MMS- (gigante). Se determinó que únicamente existe diferencia estadística significativa en el contenido de proteína siendo mayor para la variedad Oregon y de fibra cruda el cual fue mayor para la variedad MMS. Los valores finales para cada variedad se presentan en el siguiente cuadro:

Cuadro 1. *Análisis proximal de harina de dos variedades de arveja china en base seca (en g %)*

Variedad	Humedad	Proteína	Carbohidratos totales	Fibra cruda	Grasa	Cenizas
Oregon	12.4 ± 2.0	26.0 ± 0.6	56.3 ± 2.6	7.4 ± 1.8	1.44 ± 0.33	3.92 ± 0.29
MMS	10.8 ± 02	23.5 ± 0.9	60.2 ± 1.4	8.6 ± 1.9	1.36 ± 0.14	4.09 ± 0.54

(Bressani et al. 2019)

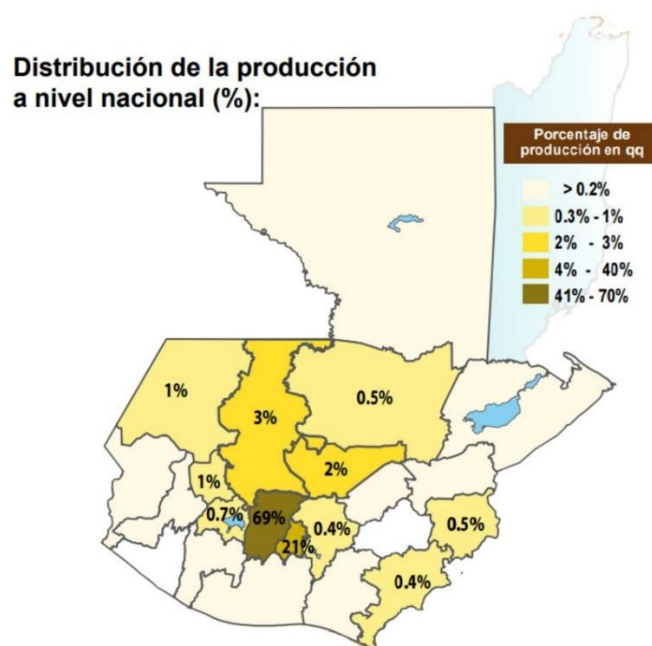
Según Cabezas (2016), la proteína de arveja contiene la mayor parte de los aminoácidos en cantidades altas. Se encuentra, especialmente, L-Lisina y L-Arginina, siendo esta última de beneficio para promover la liberación de la hormona del crecimiento. Sin embargo, la proteína carece de un contenido medio de L-Cisteína o L-Metionina. A su vez, el análisis evaluó la calidad proteínica de los cereales suplementados con harina debido a estos altos niveles del aminoácido esencial lisina que es deficiente en los cereales. Los resultados demostraron que la calidad proteica de los cereales aumenta levemente al suplementarse con 10 % de arveja china (Bressani et al., 2019).

El contenido de fibra es otro factor importante que mencionar en la composición de la arveja china. La variedad Oregon el contenido de fibra dietética total es de 13 %, 2.99 % de lignina, 5.98 % de almidón resistente y 10.4 % de proteína resistente. Por otro lado, se menciona que la variedad MMS contiene un 14.7 % de fibra dietética total, 5.97 % de almidón resistente, 12.6 % de proteína resistente e igual contenido de lignina que la variedad Oregon en base seca (en g %) (Bressani et al., 2019). Por sus características nutricionales, la arveja china es un alimento atractivo para la producción de alimentos y aprovechar los nutrientes tanto en la alimentación como en su aplicación funcional.

C. Producción de arveja china en Guatemala

La producción de arveja china en Guatemala se concentra en los departamentos de Chimaltenango (69 %), Sacatepéquez (21 %), Quiché (3 %), Baja Verapaz (2 %), Huehuetenango y Sololá (MAGA, 2016) donde la mayor parte son pequeños agricultores. Se estima que hay más de 25,000 agricultores de 200 comunidades quienes plantan alrededor de 4,500 manzanas de tierra (MAGA, 2014). El país exporta alrededor de 34,000 toneladas métricas de arvejas por año y las regiones principales son a Estados Unidos y a Europa (Bressani et al., 2019). Este cultivo es cada vez más importante como un producto no tradicional de exportación, sin embargo, para el consumidor local no es relevante por aspectos culturales y/o de poco conocimiento (Redilacg, 2015).

Figura 1. *Distribución de la producción nacional de arveja china*



(MAGA, 2016, p. 38)

En cuanto al mercado de destino, las exportaciones a Estados Unidos se estima que abarcan el 77 % de las exportaciones totales de arveja china y a Europa aproximadamente el 22 %, siendo únicamente el 1 % a otros destinos (Redilacg, 2015). El mercado de arveja china indicando que normalmente presenta condiciones de competencia con características oligopsonistas debido a que el producto es perecedero, se comercializa en grandes cantidades y los agricultores se ven limitados a la venta de su producto a compradores cercanos a las zonas de producción (Jiménez, 2011).

La siembra en Sacatepéquez se hace en terrenos que poseen montañas y colinas de altura considerable. La cosecha suele ser a mano por parte de los agricultores y el producto se traslada en cubetas o cajas plásticas. Posterior a la cosecha el producto se lleva a un centro de acopio donde se coloca en canastas (Colmenares, 2023). Estos procedimientos en el cultivo de arveja china reflejan el bajo grado de tecnificación a pesar de los altos volúmenes que manejan para exportación, por lo que esto puede ocasionar complicaciones para la venta.

D. Defectos y daños en arveja china

Las condiciones climáticas, enfermedades, pestes y el manejo postcosecha impactan directamente en la apariencia y la calidad en general de la arveja. La investigación de Colmenares (2023) expone causas de las pérdidas postcosecha de la arveja china en Chimaltenango y Sacatepéquez. Dentro de los problemas de calidad se pueden mencionar manchas, daños por deshidratación y frío, contaminación por hongos, gusanos, trips y daños mecánicos. Frutas Tropicales de Guatemala (Frutesa) ha caracterizado estos problemas y se pueden identificar con mayor facilidad en las figuras 2 y 3.

Figura 2. Guía Frutesa para a identificación de defectos daños en la arveja china



(Colmenares, 2023, p. 9)

Durante el desarrollo, la arveja china es sensible al clima y se estima que en agosto un factor influyente es la alta humedad, pues en este ambiente se favorece el crecimiento de hongos que provocan manchas negras en las arvejas. Además, el calor es el principal responsable de la deshidratación de las arvejas. Por otro lado, el manejo durante la cosecha también provoca el descarte de arveja y uno de estos casos se observa en la figura 2, donde se aprecia el mal despunte causado por el corte a mano o instrumentos inadecuados. Otro

impacto significativo debido al corte a mano del producto es la contaminación debido a que se usan las uñas para acelerar el proceso.

Los productores de Patzún, Chimaltenango, y Santa María Cauqué, Sacatepéquez, mencionan que aproximadamente el 25 a 30 % del producto es rechazado por no cumplir con la calidad (Colmenares, 2023). Frecuentemente, los productores desconocen los motivos del rechazo en la planta empacadora, aunque se les brinda un informe después con esa información, pero no se profundiza en la información. En los cuadros 1 y 3 se detallan los porcentajes de aceptación y rechazo en 3 etapas de recolección y los cuadros 2 y 4 muestran los porcentajes de rechazo de la arveja clasificado por sus causas en Santa María Cauqué, Sacatepéquez y Patzún, Chimaltenango.

Figura 3. Caracterización de problemas de calidad encontrados en Frutosa



(Colmenares, 2023, p. 8)

Cuadro 2. Clasificación por empacadora F&V Selectos, S. A., Santa María Cauqué, Sacatepéquez

Punto de muestreo	Aprobado (%)	Rechazado (%)
Recién cortada	46.18	53.82
Cubeta	59.34	40.66
Canasta	58.38	41.26

(Colmenares, 2023, p. 11)

Cuadro 3. *Causas de rechazo después de cada etapa en Santa María Cauqué, Sacatepéquez*

Tipos de daños	Recién cosechada (%)	En la cubeta (%)	En la canasta (%)
Factores precosecha			
Mancha verde	13.48	28.81	16.40
Mancha negra	10.78	7.91	18.73
Amarillenta	0.82	-	0.71
Factores postcosecha			
Basura	0.04	0.03	0.12
Mal corte	5.64	20.52	11.27
Deformidad	34.51	20.59	19.80
Sobremadura	3.95	6.37	9.65
Tamaño pequeño	30.78	15.78	23.31

(Colmenares, 2023, p. 11)

Cuadro 4. *Clasificación por empacadora F&V Selectos, S.A. y Julio Alquijay, productor del área de Patzún, Chimaltenango*

Punto de muestreo	Aprobado (%)	Rechazado (%)
Recién cortada	57.67	42.33
Costal de corte	61.63	38.37
Costal de acopio	50.61	49.39

(Colmenares, 2023, p. 12)

Cuadro 5. *Causas de rechazo después de cada etapa en Patzún, Chimaltenango*

Tipos de daños	Recién cosechada (%)	En la cubeta (%)	En la canasta (%)
Factores precosecha			
Mancha negra	34.81	37.28	10.72
Mancha blanca o trips	49.68	23.91	53.95
Factores postcosecha			
Basura	0.06	0.05	0.03
Mal corte	3.24	9.26	14.95
Sobremadura	3.70	9.64	8.16
Tamaño pequeño	3.73	11.94	7.11

(Colmenares, 2023, p. 12)

La calidad de arveja china esperada para exportación depende también de el tamaño, color, textura, sin embargo, la mala calidad no se considera una fuente de contaminación. Si la arveja china no cumple con el alto, ancho, la forma o la coloración, esta se descarta. El consumo de este tipo de arvejas no perjudica al consumidor pues no se trata de una contaminación, por lo que estas arvejas pueden ser aprovechadas por sus nutrientes y su funcionalidad (Flores et al., 2016).

E. Uso de arveja china en la industria de alimentos

El uso de legumbres en la alimentación es variado pues pueden consumirse como acompañantes de otros alimentos, *snacks*, bebidas, ingredientes funcionales y para realizar harinas compuestas para elaboración de productos de panificación, pastas, sopas y *snacks*

(Trujillo, 2010). La mezcla de harinas con leguminosas y otros cereales han sido desarrollados gracias que los cereales aumentan los niveles de lisina y las legumbres, sus niveles de aminoácidos azufrados. En la implementación de las leguminosas en otros alimentos toma en consideración el factor sensorial pues, aunque los productos resultantes muestren características nutritivas, si la aceptación general del consumidor no es alta el producto no es viable.

La implementación de legumbres en la elaboración de alimentos ha mejorado y sigue mejorando, pues estas aportan un alto contenido proteico y otros nutrientes de beneficio a los seres humanos. Un trabajo de investigación respecto al aprovechamiento de hortalizas de rechazo de exportación para la elaboración de productos innovadores se centró en la transformación de la arveja china fresca a harina. Esta harina brinda beneficios a productos de panificación como palitos de pan sin gluten o para la elaboración de sopas instantáneas aprovechando el contenido proteico de la legumbre. La aplicación de harina de arveja china presenta complicaciones en el aspecto organoléptico y, por ende, afectar negativamente la aceptación general de los consumidores (Flores et al., 2016).

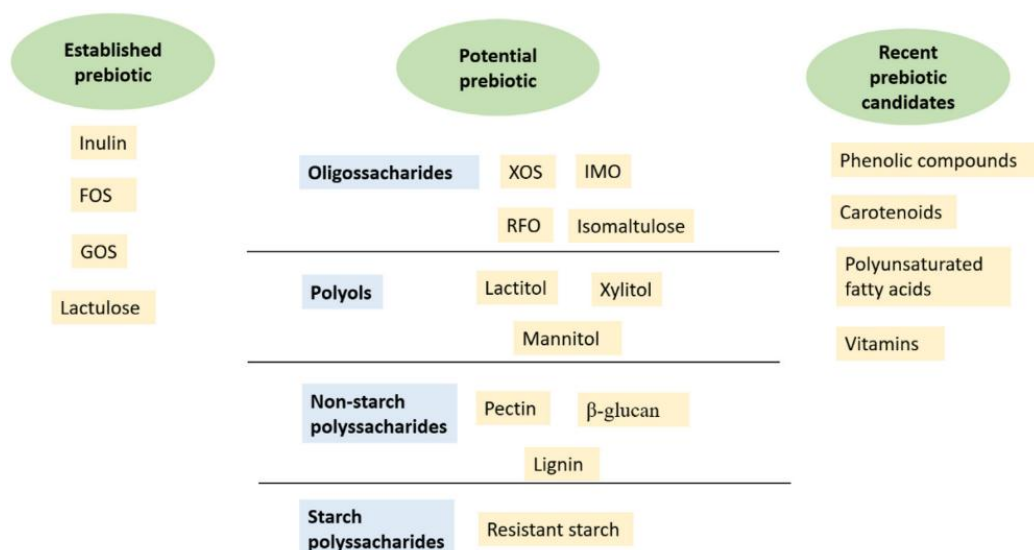
El aislamiento de la proteína de arveja china puede alcanzar hasta un 92.4 % de pureza proteica y sus propiedades fisicoquímicas y funcionales son de interés como ingredientes para formulación de alimento. Un ejemplo claro es el aprovechamiento de este aislado como emulsificante debido a que es estable en emulsiones, tiene buena capacidad de retención de agua y, además, tiene cualidades espumantes (Blandón, 2024). Con la tendencia de productos más saludables y orientados al *fitness*, el uso de esta proteína aislada también ha llamado la atención para la elaboración de bebidas proteicas.

F. Prebióticos y su influencia en la industria alimentaria

Se conoce como prebióticos a un grupo de nutrientes que son capaces de ser degradados por la flora que se encuentra en el tracto gastrointestinal. La ingestión de prebióticos permite que los microorganismos de la microflora los degrade y produzcan ácidos grasos de cadena corta y estos, se liberan al colon y son absorbidos en el sistema circulatorio (Bamigbade et al., 2022). Los dos grupos mayores de prebióticos que han sido estudiados respecto a los beneficios de la salud son los fructo-oligosacáridos y los galacto-oligosacáridos.

Otra descripción de los prebióticos es como ingredientes alimentarios no digeribles, como polisacáridos y oligosacáridos, que pueden mejorar el crecimiento de microorganismos beneficiosos de forma selectiva (como bacterias ácido-lácticas o BAL). Además, pueden llegar a presentar actividad antagonista frente a patógenos en el tracto gastrointestinal, como *Salmonella spp* y *Escherichia coli*. Por lo anterior, los prebióticos han resaltado para mejorar la salud gastrointestinal de las personas (Bamigbade et al., 2022).

Figura 4. Componentes prebióticos según el nivel de evidencia de los efectos sobre la salud: FOS, fructooligosacáridos, GOS, galactooligosacáridos, XOS, xilooligosacáridos, IMO, isomaltooligosacáridos, RFO, rafinosa



(Rosa et al., 2021, p. 2)

La clasificación de los prebióticos ha sido un tema de estudio para diversos investigadores. La figura 4 presenta la clasificación dependiendo del nivel de evidencia de los efectos sobre la salud (Rosa et al., 2021). Los granos enteros ricos en almidón resistente también pueden ser considerados como prebióticos, así como la fibra dietética y su habilidad de fermentar como los β -glucanos, xilanos, hemicelulosa y celulosa de la avena. Un producto puede ser candidato a considerarse un prebiótico dependiendo de la cantidad de fibra dietética que contiene. Sin embargo, a pesar de que la fibra dietética se compone de polisacáridos no digeribles, no toda la fibra dietética puede catalogarse como prebiótico (Bamigbade et al., 2022).

Los prebióticos son ampliamente utilizados no solo por los beneficios a la salud, además, la industria alimentaria suele utilizarlos como ingredientes tecnológicos para mejorar la estabilidad, estructura, textura o apariencia de los productos. Los prebióticos están disponibles comercialmente y se pueden obtener de fuentes naturales o a través de rutas biotecnológicas. Los autores también mencionan que los prebióticos han sido utilizados en la formulación de productos lácteos y se ha visto un impacto positivo en las propiedades fisicoquímicas, reológicas y sensoriales, pero dependen principalmente de la matriz del alimento, el tipo de prebiótico y su concentración en el producto (Rosa et al., 2021). Estos también han actuado como sustitutos de azúcares y grasas por las características sensoriales que confieren a los alimentos (Rolim, 2015).

G. Probióticos

Los probióticos se definen como microorganismos no patógenos que ejercen un impacto positivo en la salud del huésped que lo ingiere. En este grupo se pueden encontrar bacterias y levaduras que pueden estar presentes tanto en los alimentos, en suplementos alimenticios o en medicamentos (Tadesse, 2012). Los primeros descubrimientos de los

probióticos datan de principios de los años noventa con Henry Tissier, quien comparó la concentración de un tipo de bacteria en una muestra de heces de bebés con diarrea contra la muestra de bebés sanos. Él encontró que la concentración de las bacterias fue significativamente menor en los bebés enfermos. Posteriormente, se llegó a la definición de Havenaar y Huisint Veld que define los probióticos como un cultivo mono o mixto de bacterias que afecta positivamente al huésped que lo ingiera, pues mejora las propiedades de la flora autóctona (Kerry et al., 2018).

Los requerimientos identificados para que un microorganismo pueda denotarse como probiótico efectivo: 1) es capaz de adherirse a las células; 2) excluye o reduce la adherencia de los microorganismos patógenos; 3) se mantienen y se multiplican en el tracto gastrointestinal; 4) producen ácidos, peróxido de hidrógeno y bacteriocinas antagónicas al crecimiento de patógenos; 5) son seguros, no son invasivos, cancerígenos o patógenos; y 6) se unen para formar una flora normal y equilibrada. La figura 5 resume los criterios antes mencionados y los clasifica por origen o identificación, la aplicación tecnológica, competitividad y, su acción y funcionalidad. Los estudios han permitido determinar que la acción de los microorganismos ha presentado mejoras en la cantidad, disponibilidad y digestibilidad de algunos nutrientes (Tedesse, 2012).

Figura 5. Criterios de selección para cepas probióticas

Appropriateness	<ol style="list-style-type: none"> 1. Accurate taxonomic identification 2. Normal inhabitant of the species targeted: human origin for human probiotics
Technological suitability	<ol style="list-style-type: none"> 3. Nontoxic, nonpathogenic, generally regarded as safe status 1. Amenable to mass production and storage: adequate growth, recovery, concentration, freezing, dehydration, storage, and distribution 2. Viability at high populations 3. Stability of desired characteristics during culture preparation, storage, and delivery 4. Provides desirable organoleptic qualities (or no undesirable qualities)
Competitiveness	<ol style="list-style-type: none"> 1. Capable of survival, proliferation, and metabolic activity at the target site <i>in vivo</i> 2. Resistant to bile 3. Resistant to acid 4. Able to compete with the normal microflora, including the same or closely related species; potentially resistant to bacteriocins, acid, and other antimicrobials produced by residing microflora 5. Adherence and colonization potential preferred
Performance and functionality	<ol style="list-style-type: none"> 1. Able to exert one or more clinically documented health benefits (e.g. lactose tolerance) 2. Antagonistic toward pathogenic / cariogenic bacteria 3. Production of antimicrobial substances (bacteriocins, hydrogen peroxide, organic acids, or other inhibitory compounds) 4. Immunostimulatory 5. Antimutagenic 6. Anticarcinogenic 7. Production of bioactive compounds (enzymes, vaccines, peptides)

(Tedesse, 2012, p. 126)

La mayoría de los probióticos son bacterias y, comúnmente, se habla de las bacterias ácido-lácticas (BAL) como principales probióticos. Sin embargo, determinados mohos y levaduras han presentado beneficios como probióticos (Corrales y Arias, 2020). La figura 6 presenta ejemplos de cepas microbianas que se utilizan comercialmente como probióticos. Los géneros utilizados como probióticos incluyen las bacterias *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Propionibacterium*, *Leuconostoc* y algunas especies de *Bacillus*, levaduras como *Saccharomyces* y hongos como *Aspergillus* (Corrales y Arias, 2020). En la figura 7 se resumen los géneros anteriormente mencionados y las especies involucradas en cada género que se usan como probióticos.

Figura 6. Ejemplos de cepas microbianas que se utilizan comercialmente como probióticos

Microbial strain	Brand name	Target application
Lactobacilli		
<i>Lactobacillus casei</i> Imunitass (DN-114 001)	Actimel	Immune response
<i>Lactobacillus casei</i> Shirota (YIT 9029)	Yakult	Gut health, digestive system, natural defense
<i>Lactobacillus johnsonii</i> La1 (NCC 533)	LC1	Gut health, natural defense
<i>Lactobacillus plantarum</i> 299v	ProViva	Digestive system
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG (ATCC 53103)	Gefilus, Vifit,	Gastro-intestinal health, immune response
Bifidobacteria		
<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. lactis Bb12	Various brand names	Gastro-intestinal health, immune response
<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. lactis <i>Bifidus Actiregularis</i> (DN 173-010)	Activia	Gut transit
<i>Bifidobacterium breve</i> Yakult	Bifiene microbiota	Digestive system/gut
<i>Bifidobacterium longum</i> BB 536	Various brand names	(yoghurt, powder) Gut microbiota, immune system
Mixtures of lactic acid bacteria		
VSL#3 (mixture of eight strains)	VSL#3 (powder)	Biotherapeutic agent (irritable bowel syndrome, bowel diseases)
Other bacteria		
<i>Escherichia coli</i> Nissle 1917	Mutaflor (suspension)	Biotherapeutic agent (gut microbiota, bowel diseases)
Yeasts		
<i>Saccharomyces boulardii</i>	Enterol (pills)	Biotherapeutic agent (diarrhea, <i>Clostridium difficile</i>)

(Tadesse, 2012, p. 127)

Figura 7. Microorganismos actuales utilizados como probióticos

Probiotic bacterial genera	Species involved
<i>Lactobacillus</i>	<i>L. plantarum</i> , <i>L. paracasei</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. crispatus</i> , <i>L. gasseri</i> , <i>L. reuteri</i> , <i>L. bulgaricus</i>
<i>Propionibacterium</i>	<i>P. jensenii</i> , <i>P. freudenreichii</i>
<i>Peptostreptococcus</i>	<i>P. productus</i>
<i>Bacillus</i>	<i>B. coagulans</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>B. laterosporus</i>
<i>Lactococcus</i>	<i>L. lactis</i> , <i>L. reuteri</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. curvatus</i> , <i>L. plantarum</i>
<i>Enterococcus</i>	<i>E. faecium</i>
<i>Pediococcus</i>	<i>P. acidilactici</i> , <i>P. pentosaceus</i>
<i>Streptococcus</i>	<i>S. sanguis</i> , <i>S. oralis</i> , <i>S. mitis</i> , <i>S. thermophilus</i> , <i>S. salivarius</i>
<i>Bifidobacterium</i>	<i>B. longum</i> , <i>B. catenulatum</i> , <i>B. breve</i> , <i>B. animalis</i> , <i>B. bifidum</i>
<i>Bacteroides</i>	<i>B. uniformis</i>
<i>Akkermansia</i>	<i>A. muciniphila</i>
<i>Saccharomyces</i>	<i>S. boulardii</i>

(Kerry et al., 2018, p. 929)

1. Mecanismo de acción de los probióticos

Diversas investigaciones han propuesto varios mecanismos de acción que explican los beneficios de los probióticos. Uno de los mecanismos es por medio de la producción de sustancias antimicrobianas, lo cual permite un equilibrio entre microorganismos beneficiosos y potencialmente patógenos. Esto sucede cuando los microorganismos secretan una variedad de compuestos antimicrobianos mencionados anteriormente como bacteriocinas, ácidos orgánicos, biosurfactantes, entre otros (Corrales y Arias, 2020).

La producción de ácido puede considerarse como un mecanismo aparte del anterior. En general, las BAL probióticas liberan ácidos orgánicos (láctico y acético, principalmente) que reducen el pH intestinal. Esto es de beneficio para el huésped debido a que crea un ambiente ácido óptimo para la microflora ya presente y este mismo ambiente impide el crecimiento de patógenos. La actividad enzimática es otro mecanismo debido a que, al secretar enzimas, hidrolizan toxinas bacterianas, modifican los receptores de toxinas y, por tanto, inhiben la enfermedad mediada por toxinas (Corrales y Arias, 2020).

La competencia por recursos limitados es otro mecanismo de los probióticos. Un ejemplo de esto es con el hierro -sustancia limitante y esencial para casi todas las bacterias-, pues se ha visto que *L. acidophilus* y *L. delbrueckii* pueden unir el hidróxido férrico en sus células y lo vuelve inaccesible para patógenos que esta interacción competitiva mutua, la competencia por nutrientes esenciales y la producción de las sustancias antimicrobianas protegen al huésped de crecimiento excesivo de patógenos (Corrales y Arias, 2020; Tadesse, 2012).

2. Influencia en la industria de alimentos

Tradicionalmente, se ha reconocido al yogur y la leche fermentada como medios para ingerir probióticos. Los consumidores tienen conocimiento que los productos fermentados como los lácteos contienen microorganismos vivos que son asociados con beneficios a la salud. La industria también ha desarrollado productos sin lácteos que contienen probióticos utilizando soya, cereales o vegetales (Tadesse, 2012). Los probióticos también se han incluido en jugos frutales, carne fermentada y chocolate, así como en tabletas, cápsulas y polvos liofilizados.

En la industria de alimentos, los ejemplos más claros y con mayor énfasis en estudios se ha dado en productos lácteos. Sin embargo, en la actualidad existe una mayor demanda de productos a base de plantas por alergias o intolerancias a los lácteos, o bien, para seguir las tendencias. Estas condiciones han permitido estudiar el comportamiento de los probióticos en matrices vegetales. El crecimiento y la viabilidad de las bacterias probióticas en bebidas de frutas y vegetales depende de la especie y cepa de la bacteria utilizada, el pH y las concentraciones de ácido láctico y acético del producto final. La dificultad que existe en este tipo de productos se deba a que las bacterias pueden verse inhibidas por el ácido de las frutas o verduras y, por tanto, necesitan protección (Bernal, Díaz y Gutiérrez, 2017). Otros estudios han evidenciado que existen cepas resistentes que son capaces de crecer y reproducirse en estas condiciones.

Los retos principales de la inclusión de probióticos en matrices vegetales incluyen la composición de las matrices vegetales, el crecimiento y viabilidad de los microorganismos, la concentración inicial del inóculo, el efecto sensorial, entre otros. La naturaleza de los compuestos presentes en las frutas y vegetales es un factor que puede presentar efecto inhibitorio en la viabilidad de los probióticos. En un estudio para elaborar una bebida probiótica con jugo de arándano se vio afectado el crecimiento por el alto contenido de ácido benzoico y lactonas (concentraciones aproximadas de 34 mg/L). Los efectos fueron nocivos en la viabilidad de los probióticos pues a concentración encontrada naturalmente está en el rango de concentración usado en la preservación de alimentos perecederos (Bernal, Díaz y Gutiérrez, 2017).

En el factor de crecimiento y viabilidad lo complejo es la elección de la cepa probiótica. En el proceso de elaboración y almacenamiento se debe garantizar la supervivencia del microorganismo tanto fuera como dentro del tracto intestinal una vez ingerido. Una sugerencia de los autores es el aislamiento de cepas BAL encontradas naturalmente en las verduras y frutas, pues su resistencia es mayor a condiciones de alta acidez y salinidad. Otros factores influyentes son: 1) concentración de oxígeno; 2) acidez y pH; 3) tipo de empaque; 4) temperatura de producción y almacenamiento; y 5) tecnologías de conservación (congelado y secado) (Bernal, Díaz y Gutiérrez, 2017).

La concentración de los microorganismos a inocular es relevante debido a que se considera como primer paso la selección de la cepa o cepas y la dosis para el desarrollo de un producto con características probióticas. Los alimentos con probióticos deben contener una dosis abundante de los microorganismos viables durante el tiempo de vida útil del producto, si así se declaran en la etiqueta. El Codex Alimentarius presenta una normativa para leches fermentadas y derivados. En esta se menciona que la suma de microorganismos que comprenden el cultivo debe ser de un mínimo de 10^7 UFC/g y, en el caso de los microorganismos etiquetados debe contener un mínimo de 10^6 UFC/g (CXS 243-2003). Es importante mencionar que esta es la única normativa internacional que habla del contenido mínimo de microorganismos haciendo énfasis en probióticos. En 2023 se realizó una reunión en Düsseldorf, Alemania para discutir la armonización de lineamientos para el uso de probióticos en alimentos y suplementos alimentarios (NFSDU/43 CRD39, 2023).

Durante todo el proceso de desarrollo de un alimento de origen vegetal con características probióticas se debe considerar el efecto sensorial. Estudios han reportado

sabores salados, agrios y olores perfumados en bebidas de fruta con adición de probióticos (Bernal, Díaz y Gutiérrez, 2017). Es importante mencionar que la exposición y familiaridad con las bebidas probióticas ayuda a mejorar la aceptación y el gusto de los consumidores. La figura 8 muestra los estudios donde se ha incluido probióticos en productos a partir de frutas y vegetales.

Figura 8. Inclusión de probióticos en matrices vegetales

Matriz alimentaria	Probiótico	Tipo de producto	Efecto sensorial	Viabilidad	Condiciones de inclusión
Ananá, Naranja, Melocotón, Manzana.	<i>L. casei</i> LC-01 <i>L. casei</i> BGP 93	Bebidas (jugos) comerciales.	Los cambios sensoriales indicaron que la vida útil de jugo inoculado no excede 1 semana.	La viabilidad fue óptima con ananá, melocotón y manzana (10^8 UFC/mL sólo el jugo de naranja afectó la proliferación de ambas cepas.	Se estabilizó el pH en un rango entre 3,34 a 4,28. Almacenamiento a 5°C durante 4 semanas.
Manzana verde Naranja, Piña Frutos rojos	<i>L. reuteri</i> DSM 20016.	Bebidas (jugos) comerciales	<i>L. reuteri</i> no ejerció ningún efecto negativo en los atributos sensoriales de los jugos en refrigeración	Los resultados sugieren que la viabilidad de <i>L. reuteri</i> fue afectada por el tipo de jugo, la bacteria sobrevivió en jugos piña, naranja y manzana, mientras que experimentó una fuerte reducción de jugos de frutos rojos (menor a 10^7 UFC/mL).	Se estabilizaron los rangos de pH y se evaluó el contenido de sólidos totales y de azúcares.
Piña, Naranja, Arándano	<i>L. salivarius</i> ssp. <i>L. paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i> NFBC43338.	Bebidas (jugos) comerciales.	No se evaluó el efecto sensorial, pero si el efecto a tratamientos térmicos (pasteurización).	Las cepas examinadas fueron viables durante más tiempo en el jugo de piña y en el de naranja en comparación con el de arándano. (10^7 UFC/mL).	Se ajustó el pH a 3,5, 4,5 y 5,0. Periodo de almacenamiento de 12 semanas a 4°C.
Arándano, Grosella negra	<i>L. plantarum</i> NCIMB 8826	Polvos liofilizados de frutas	No se evaluó el efecto sensorial.	El polvo de grosella negra fue el que mantuvo la viabilidad celular. (10^8 UFC/g).	Almacenamiento por 12 meses, reconstitución en agua.
Manzana	<i>B. animalis</i> subsp <i>lactis</i> Bb-12	Jugo de manzana	No se evaluó efecto sensorial.	Mutagénesis UV y la posterior incubación en medio ácido lograron mejorar la estabilidad de la cepa (10^7 UFC/mL), al incluirla en la matriz	El jugo se estabilizó a un pH 3,5.
Piña, manzana, naranja	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. brevis</i> <i>L. rhamnosus</i>	Jugos comerciales (formulados con pulpas y purés)	No se evaluó el efecto sensorial.	Estabilidad de los probióticos (10^7 UFC/mL), durante el almacenamiento por 35 días a 4°C.	El pH de la bebida fue ajustado a 4,2.
Granada y arándano	<i>L. plantarum</i> <i>B. longum</i>	Jugos de Granada y arándano	No se evaluó el efecto sensorial.	La encapsulación mejoró la viabilidad con una concentración final de aproximadamente 10^8 UFC/mL y 10^6 UFC/mL.	Evaluación de la viabilidad de las células libres y encapsuladas en perlas de pectina y alginato.
Moras, ciruelas, kiwis y papaya.	<i>L. plantarum</i> , <i>Lactobacillus pentosus</i>	Diseño de bebida tipo smoothies de frutos verdes (GS) y rojos (RS).	$\Delta E^* ab$ y el índice de pardeamiento se vieron afectados positivamente.	Los cultivos se mantuvieron viables a una concentración de (10^9 UFC/g) durante 30 días de almacenamiento a 4°C.	Se asilaron las cepas de las matrices vegetales y se realizó la identificación molecular
Naranja	<i>L. rhamnosus</i> GG, <i>L. casei</i> Imunitass	Jugo naranja (bebida comercia sin pulpa)	Jugos enriquecidos con probióticos fueron evaluados sensorialmente por un panel descriptivo	Para el jugo de naranja con <i>L. paracasei</i> NFBC 43338, se observaron 5×10^8 UFC / mL.	Los resultados mostraron que los jugos tenían significativamente ($p < 0,05$) diferentes perfiles sensoriales.
Durazno	<i>L. rhamnosus</i> Cepas salvajes.	Mermelada comercial de durazno	Los cultivos probióticos añadidos a mermelada no cambiaron significativamente los parámetros de color.	Todas las cepas mostraron un mejor rendimiento en la mermelada, con valores superiores a (10^7 UFC/g), hasta los 78 días de almacenamiento a 5°C.	Almacenamiento durante 78 días a 25°C y 5°C. Diseño de medio sintético de durazno (control).
Remolacha roja	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. delbrueckii</i> , <i>L. plantarum</i>	Jugo fermentado de remolacha	No se evaluó el efecto sensorial.	Los recuentos en placa de las bacterias de ácido lácticas, en el jugo de remolacha fermentado, se mantuvieron a 10^6 - 10^8 UFC/mL excepto para <i>L. acidophilus</i> después de 4 semanas de almacenamiento en frío a 4°C.	Los cultivos lácticos en el jugo de remolacha fermentada perdieron gradualmente su viabilidad durante el almacenamiento en frío.
Mora	<i>L. casei</i> ATCC 393	Láminas de mora	El análisis sensorial arrojó un puntaje de aceptación superior a 5 en una escala de 1 a 7.	La presencia de prebióticos sobre la viabilidad del microorganismo al permitir la supervivencia por más de 40 días, con recuentos superiores a 10^6 UFC/mL, mientras en la muestra control fue inferior luego de 25 días	Efecto de la fibra prebiótica en la supervivencia del probiótico en matrices de mora mediante un proceso de impregnación a vacío y posterior liofilización.

(Bernal, Díaz y Gutiérrez, 2017, p. 387)

H. Posbióticos y paraprobióticos

Un término que ha surgido con recientes investigaciones es el de los posbióticos, que no son más que los metabolitos secretados por bacterias vivas o liberados después de la lisis bacteriana (Teame et al., 2020). Los posbióticos o metabolitos incluyen subproductos bacterianos como bacteriocinas, ácidos orgánicos, etanol, diacetilo, acetaldehídos y peróxido de hidrógeno. Es importante mencionar que, específicamente, los probióticos muertos por calor también pueden retener importantes estructuras bacterianas que pueden influir en el huésped (Kerry et al., 2018).

Muchos de los beneficios encontrados en los alimentos simbióticos, probióticos y prebióticos se debe a la producción eventual de ácidos grasos de cadena corta u otros componentes. Estos autores mencionan, además de los compuestos anteriores, proteínas funcionales, polisacáridos secretados, polisacáridos extracelulares (EPS), lisados celulares, ácido teicoico, muropéptidos derivados de peptidoglicanos y estructuras tipo pili (Wegh et al., 2019).

Un tipo de posbiótico son los paraprobióticos, que se describen como células microbianas no viables o que se han inactivado pero que, en cantidades suficientes, confieren beneficios al huésped (Terrén et al., 2020). Estos nuevos estudios han encontrado que los productos generados por los microorganismos, aun cuando estos microorganismos ya no están en el medio, pueden generar efectos similares.

En comparación a los probióticos vivos, los paraprobióticos ofrecen ventajas como la transformación de los microorganismos vivos en ingredientes que facilitan su dosificación. Otra de las ventajas es que se reduce el riesgo de colonización errática de bacterias vivas y se mejora la estabilidad en la formulación del alimento; en general, facilitan su producción industrial y el transporte. Es importante mencionar que el uso de paraprobióticos permite conservar los efectos biológicos similares a los que proveen los microorganismos vivos en cuanto a la restauración del equilibrio o homeostasia de la microbiota intestinal (Terrén et al., 2020). En el cuadro 5 se puede observar un resumen de las ventajas de estos compuestos en comparación a los probióticos activos.

Cuadro 6. *Ventajas de los paraprobióticos frente a los probióticos*

Seguridad	Efectos fisiológicos	Ventajas galénicas y comerciales
Sin traslocación bacteriana desde lumen a sangre, sobre todo en personas vulnerables	Liberan moléculas activas que son capaces de atravesar las capas de moco, permitiendo una estimulación más directa de las células epiteliales	Más fáciles de estandarizar, transportar y almacenar
No provocan resistencia a antibióticos No interfieren en la colonización normal de la microbiota intestinal en neonatos	Producen más efectos beneficiosos y más complejos	No se degradan durante la preparación de fórmulas infantiles de leche

(Adaptado de Terrén et al., 2020)

La figura 9 presenta los posbióticos investigados y sus fuentes naturales, asimismo, se encuentran las fuentes de varios prebióticos estudiados por sus efectos beneficiosos.

Figura 9. Posbióticos y prebióticos y sus fuentes naturales

Bioactive compounds	Natural sources
Postbiotics	
Bacteriocins	<i>Lactobacillus plantarum</i> I-UL4
Heat-killed LGG	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
Soluble mediator	<i>Lactobacillus paracasei</i>
Butyrate	<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>
Polyphosphate	<i>Lactobacillus brevis</i>
Exopolysaccharides	<i>Lactobacillus pentosus</i>
Short-chain fatty acids	<i>Lactobacillus gasser</i>
Prebiotics	
Fructo-oligosaccharides	Onion, Leek, Asparagus, Chicory, Jerusalem artichoke, Garlic, Wheat, Oat
Inulin	Agave, Banana/Plantain, Burdock Camas, Chicory, Coneflower, Costus, Dandelion, Elecampane, Garlic, Globe artichoke, Jerusalem artichoke, Jicama, Leopard's bane, Mugwort root, Onion, Wild yam, Yacón
Isomalto-oligosaccharides	Miso, Soy, Sauce, Sake, Honey
Lactulose	Skim milk
Lactosucrose	Milk sugar
Galacto-oligosaccharides	Lentil, Human milk, Chickpea/hummus, Green pea, Lima bean, Kidney bean
Soybean oligosaccharides	Soybean
Xylo-oligosaccharides	Bamboo shoot, Fruits, Vegetables, Milk, Honey
Fructo-oligosaccharides	Onion, Chicory, Garlic, Asparagus, Banana, Artichoke
Arabinoxylan	Bran of grasses
Arabinoxylan oligosaccharides	Cereals
Resistant starch-1,2,3,4	Beans/legumes, Starchy fruits and vegetables (e.g. bananas), Whole grains

(Kerry et al., 2018, p. 930)

I. Alimentos simbióticos

Se conoce como alimento simbiótico a las preparaciones que contienen una o más especies de probiótico e ingredientes prebióticos (Larrea et al., 2023). Se dice también que este tipo de alimentos es una mezcla de microorganismos vivos y sustratos utilizados selectivamente por los microorganismos del hospedador que confieren un beneficio para la salud del que los consume (Swanson et al., 2020).

El interés comercial de este tipo de alimentos ha ido en crecimiento debido a que ha aumentado la consciencia hacia los beneficios a la salud gastrointestinal, prevención de enfermedades y terapia. Los efectos positivos de la sinergia entre pre y probióticos provoca que la eficiencia se potencie en el consumidor (Kerry et al., 2018). Dentro de los efectos positivos evidenciados por el consumo de alimentos simbióticos ha sido el alivio del estreñimiento, reducción de niveles elevados de glucosa en sangre en ayunas y el riesgo de desarrollar sepsis postoperatoria tras una cirugía gastrointestinal (Wegh et al., 2019).

Los alimentos simbióticos se pueden diferenciar por los complementarios y sinérgicos. El primero se refiere a que el prebiótico es añadido sin que se espere la fermentación por el probiótico y, el segundo, sí se agrega el ingrediente prebiótico para apoyar el crecimiento del microorganismo (Larrea et al., 2023).

VI. METODOLOGÍA

A. Preparación de la base fermentada de arveja china (*Pisum sativum L.*) para la bebida simbiótica

1. Establecimiento de los parámetros de trabajo

Se realizó una investigación previa para determinar los parámetros con los que se da el crecimiento microbiano en la elaboración de bebidas probióticas a partir de una matriz vegetal. En esta investigación también se determinaron los parámetros para elaborar harina de arveja (Vielman, 2023). Se contempló el uso de arveja china en harina y fresca para elaborar las soluciones, adicionalmente, se investigó el contenido de agua y proteína de la arveja fresca y de la harina. Con ello, se definió el contenido adecuado de arveja fresca y harina para preparar las soluciones.

2. Acondicionamiento de la arveja china fresca y harina de arveja

Se utilizaron 500 g de arveja china fresca para la preparación de soluciones y 10 kg de arveja china fresca para la elaboración de la harina. La arveja china se escaldó en un rango de 95 a 100 °C durante diez minutos para inactivación de enzimas que provoquen sabores y aromas indeseables. Las vainas de arvejas destinadas a hacer harina se centrifugaron para eliminar exceso de agua, se separaron por la mitad para aumentar el área superficial y se colocaron, sin sobreponerlas, en bandejas para su deshidratación. El proceso de secado se realizó durante 18 horas a 65 °C.

3. Preparación de las soluciones de arveja

Se trabajaron dos tipos de muestras, una solución con arveja china fresca y la otra fue una suspensión de harina de arveja. La arveja fresca se escaldó durante diez minutos en agua a 95-100 °C, se determinó el agua absorbida tras el escaldado y se licuó haciendo pruebas con 37.4, 50.2 y 67.2 % de agua total. Se evaluó el rendimiento tras el filtrado de cada una de las soluciones y se determinó el contenido de sólidos solubles con un refractómetro marca Hanna Instruments modelo HI 96801 con un rango de 0 a 85 °Brix. Se consideró que el contenido de sólidos solubles fuese entre 1.5 a 3.5 °Brix con el fin de que estos se utilizaran por los microorganismos durante la fermentación. Los factores de rendimiento y contenido de sólidos solubles fueron importantes para la elección de la proporción de arveja y agua.

El contenido de harina de arveja china para la suspensión con harina se evaluó a partir de estudios previos, se estimó el contenido de proteína para igualar el contenido de otro estudio (Zipori et al., 2024). Además, se evaluó que la consistencia fuese suficientemente líquida para aplicar en una bebida. El porcentaje de harina para igualar el contenido de proteína presentado en por Zipori et al. (2024) fue de 13.5 %, sin embargo, la consistencia fue poco fluida y no se observó aplicación para bebidas, por tanto, se estimó el porcentaje final considerando la fluidez y contenido de sólidos solubles (en grados Brix). La harina se pesó según la proporción elegida, se disolvió en agua y se pasteurizó con agitación a 70 °C durante 15 minutos, al igual que la solución preparada con arveja china fresca.

4. Evaluación del crecimiento de microorganismos en la base fermentada con arveja china

Se realizaron pruebas con siete cepas probióticas proporcionadas por el Laboratorio de Microbiología de la Universidad del Valle de Guatemala: *Lactiplantibacillus plantarum* ATCC 8014, *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* ATCC BAA-52, *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042, *Lactococcus lactis subsp. lactis* ATCC 19435, *Lactobacillus fermentum* ATCC 9338, *Lacticaseibacillus paracasei* ATCC 334 y *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356. A las dos soluciones elaboradas anteriormente, se les midió el pH inicial y se inocularon 50 mL de cada solución con 1 mL de cada cepa a probar, conteniendo como mínimo 1×10^7 UFC/mL. Las condiciones de incubación para las cinco muestras fueron a 30°C durante 72 horas.

Tras el período de incubación, las muestras se evaluaron por cambio de pH y un recuento en placa. El procedimiento para recuento en placa se tomó de Jiménez (2022) con modificaciones. Se tomó 1 mL de cada muestra fermentada y se diluyó en 9 mL de agua peptonada estéril al 0.1 %. Se utilizaron diluciones decimales en placas Petri, se sembró la sexta y séptima dilución decimal en duplicado y se agregaron de 20-25 ml del medio MRS (Man, Rogosa y Sharpe) a cada placa. Las placas se dejaron incubando 72 horas a 30 °C.

5. Selección de la cepa probiótica para la formulación de la bebida

Una vez realizado el recuento se seleccionaron dos cepas probióticas que presentaron mejores características. Se tomaron como criterios de selección un recuento total alto, un pH final bajo con relación a la inicial y un aroma atractivo, sin presencia de aromas verdes o característicos de las legumbres, para aplicación a bebidas. Esto indicaría que la cepa presenta adecuadas características de crecimiento el sustrato y puede ser atractiva para el consumidor.

B. Aplicación de la base fermentada para la formulación de la bebida probiótica

1. Formulación de la bebida simbiótica

Al seleccionar la cepa probiótica con la que se elaborará la bebida, se escalaron los procesos. Se elaboró un litro de la solución de harina de arveja china agregando 5 % (p/p) y se pasteurizó a 70 °C por 15 minutos. En frascos graduados de vidrio aptos para esterilizar de 1000 mL se elaboró la base fermentada inoculando la solución previamente realizada con 1 % (v/v) de la cepa probiótica. La solución con el inóculo se dejó incubar a 30 °C por 72 horas. Se probaron tres formulaciones de la bebida variando únicamente la proporción de la base fermentada. La formulación incluyó: base fermentada de arveja china, agua, sacarosa, ácido ascórbico y pectina como estabilizante.

Cuadro 7. Matriz de la formulación para la bebida probiótica utilizando la concentración de base fermentada de arveja china como variable

Ingrediente	Prueba 1 (%)	Prueba 2 (%)	Prueba 3 (%)
Base fermentada de arveja china	30.00	40.00	50.00
Sacarosa	6.30	6.30	6.30
Vitamina C (ácido ascórbico)	0.06	0.06	0.06
Pectina	0.05	0.05	0.05
Agua	59.59	49.59	39.59
TOTAL	100.00	100.00	100.00

2. Evaluación sensorial

a. Grupo focal

Se trabajó un grupo focal se para comprender los gustos y atractivos de las formulaciones de prueba. Se elaboraron 250 mL de cada formulación al 30% de la base fermentada, variando únicamente el inóculo utilizado para fermentar la base de harina de arveja china: una con *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 y otra con *Lacticaseibacillus paracasei* ATCC 334. Se almacenaron las muestras en refrigeración por un día previo a realizar un grupo focal con cinco personas, estudiantes de la Universidad del Valle de Guatemala. Durante esta fase se evaluó la percepción general, sabor, aroma, consistencia, mejoras y ocasiones de consumo para que las personas compartieran opiniones, sugerencias y otros comentarios para el producto. En el grupo se trabajó con consumidores regulares de alimentos funcionales, así como no consumidores. La información se utilizó para tomar decisiones sobre la forma en presentar y continuar formulando.

b. Aceptación sensorial

Se elaboraron 1.4 litros de cada formulación de la bebida probiótica para su evaluación sensorial. Esta se evaluó a partir de un panel sensorial con 51 personas mayores de 18 años. Se utilizó una escala hedónica de nueve puntos para determinar la aceptación general y de aroma para las tres formulaciones. Además, se utilizó una escala explícita JAR (just about right) o TCG (tal como me gusta), para evaluar los atributos de acidez, dulzor, consistencia y color.

Cuadro 8. Codificación de las muestras para evaluación de vida de anaquel sensorial

Muestra	Codificación
Formulación con 30 % de base fermentada	269
Formulación con 40 % de base fermentada	635
Formulación con 50 % de base fermentada	482

Los resultados se analizaron utilizando un ANOVA de dos factores con interacción, siendo el factor A, la frecuencia en el consumo de alimentos funcionales y el factor B, la muestra con diferentes proporciones de base fermentada. Se utilizaron las siguientes hipótesis de investigación:

Para el factor frecuencia de consumo

H₀: No hay diferencia entre las medias en la frecuencia de consumo.

H_a: Sí hay diferencia entre las medias en la frecuencia de consumo.

$$H_0: \tau_1 = \tau_2 = 0$$
$$H_a: \tau_i \neq 0 \text{ (al menos uno)}$$

Para el factor muestra

H₀: No hay diferencia entre las medias de las muestras.

H_a: Sí hay diferencia entre las medias de las muestras.

$$H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3 = 0$$
$$H_a: \beta_i \neq 0 \text{ (al menos uno)}$$

Para la interacción

H₀: No hay diferencia entre las medias de la interacción.

H_a: Sí hay diferencia entre las medias de la interacción.

$$H_0: (\tau\beta)_{11} = (\tau\beta)_{12} = (\tau\beta)_{13} = (\tau\beta)_{21} = (\tau\beta)_{22} = (\tau\beta)_{23} = 0$$
$$H_a: (\tau\beta)_i \neq 0 \text{ (al menos uno)}$$

El parámetro decisivo para rechazar la hipótesis nula fue el valor-p $\leq \alpha$, donde $\alpha = 0.05$. Rechazar la hipótesis nula indica que las medias comparadas son significativamente diferentes.

C. Determinación de la composición nutricional y análisis fisicoquímicos

Los análisis a continuación se realizaron utilizando la formulación seleccionada a partir de las evaluaciones sensoriales en duplicado para cada análisis. Se prepararon 6 litros de la bebida y se liofilizó utilizando el equipo marca Harvest Right con capacidad de 15 libras, únicamente para los análisis de composición nutricional. Los análisis fisicoquímicos requirieron de la bebida líquida. A continuación, se detallan los análisis realizados.

1. Humedad

Se determinó el contenido de humedad por método AOAC 934.01.

2. Cenizas

Se determinó el contenido de cenizas totales por método AOAC 938.08.

3. Grasa

Se determinó el contenido de grasa cruda por método Soxhlet AOAC 920.58.

4. Proteína

Se determinó el contenido de proteína cruda por método Kjeldahl AOAC 2001.11.

5. Carbohidratos

El contenido de carbohidratos totales se obtuvo según Nielsen (2019), el cual es calculado restando las sumas de proteína, grasa total, humedad y cenizas en una porción de 100 g del alimento.

6. Fibra dietética

Se determinó el contenido de fibra dietética a través del kit Megazyme basado en los métodos AOAC 985.29 y AOAC 991.43.

7. pH

La determinación de pH se realizó con un potenciómetro de la marca Hanna Instruments HI 99161.

8. Color

El color se midió utilizando el colorímetro portátil marca Hunter Lab modelo MiniScan EZ 4500. En placas de Petri se colocó la bebida homogenizada por agitación, se cubrió con su respectiva tapa y se tomó la medición con el colorímetro en un área con buena iluminación y fondo neutro.

D. Determinación de la vida de anaquel y crecimiento de los microorganismos

Se elaboraron 3 litros de la bebida probiótica con la formulación mayormente aceptada por panel sensorial. Se distribuyeron 250 mL de la bebida en 8 recipientes PET para y se almacenaron en refrigeración (4 °C), con el fin de evaluar pH, crecimiento del probiótico y color cada semana durante un mes. El pH y crecimiento del probiótico se realizaron como se describió anteriormente en esta metodología. El color se midió utilizando el colorímetro portátil marca Hunter Lab modelo MiniScan EZ 4500. Los datos obtenidos indicaron la luminosidad de la muestra, el espectro rojo a verde y el rojo a azul (L^* , a^* y b^* , respectivamente). La vida útil se realizó a partir del método orden de reacción basado en la cinética de las reacciones a 4 °C, utilizando el pH como parámetro crítico y el o los valores del espacio de color CIELAB que mejor se ajusten al modelo.

Adicionalmente se realizó un recuento de mohos y levaduras durante el mes de almacenamiento. Se utilizó el método recomendado por ISO 21527-1 para la enumeración de levaduras y mohos en productos alimenticios para consumo humano utilizando agar DRBC (Diclorán-Rosa Bengala-Cloranfenicol). Las placas se incubaron a 25 °C durante 5 días.

E. Análisis estadístico

El análisis estadístico ANOVA se realizó utilizando el programa R para Windows versión 4.4.1 (2024-06-14 ucrt) Copyright (C) 2024.

VII. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

A. Preparación de la base fermentada de arveja china (*Pisum sativum L.*) para la bebida probiótica

El objetivo general de este estudio fue formular una bebida probiótica a partir de arveja china de descarte, evaluando su viabilidad como sustrato fermentable para aprovechar sus propiedades nutricionales. Para ello se inició evaluando la preparación de las soluciones de arveja que se utilizaron como sustrato, desde los tratamientos previos a la arveja china, la proporción de arveja y agua, el pH inicial y el contenido de sólidos solubles en las soluciones finales. Los tratamientos previos a los que se sometió la arveja fueron realizados con el fin de evitar oxidación enzimática, reducción o inhibición de compuestos indeseables o anti nutrientes y eliminación de la carga inicial de microorganismos.

La arveja, a pesar de poseer pocos antinutrientes, sigue siendo objeto de estudio eliminarlos o reducirlos. Se ha encontrado que remojar las arvejas como paso previo puede reducir significativamente el contenido de lectinas y oxalatos, pero no el ácido fítico. Estructuralmente, esto puede alterar la proteína y complejo fibroso alrededor de los gránulos de almidón en cierto tipo de arvejas, lo que lleva a hincharlos altamente durante la gelatinización (Wu et al., 2023). Por otro lado, la cocción o escaldado produce cambios favorables en la arveja como reducir o inactivar compuestos anti nutricionales. Las propiedades físicas y la composición química del tipo de arveja impactan en el proceso de cocción. Se encontró que la firmeza de arvejas cocidas se relacionaba con el contenido de proteína, almidón y ceniza (Wu et al., 2023).

El escaldado fue requerido como paso previo, tanto para preparar las soluciones de arveja fresca como para elaborar la harina. Se tomó como referencia someter las arvejas a 100 °C durante 10 minutos como establecieron Bressani et al. (2019). Este mismo estudio demostró que no existe diferencia significativa para proteína, carbohidratos totales, grasa y ceniza en arvejas crudas y escaldadas. Únicamente en fibra cruda se encontró mayor contenido de esta en la arveja escaldada. Bressani et al. (2019) también mencionan que la estructura celular de la arveja china se compone de agua y polímeros que dan origen a la fibra dietética, una parte soluble y otra insoluble. Es importante mencionar que el material soluble tiene características gelificantes y fermentables. Esto impacta en la cantidad de agua que puede absorber durante el proceso de escaldado.

Por lo anterior, las soluciones de arveja china fresca fueron evaluadas para determinar la cantidad de agua a añadir durante el licuado. Se determinó el contenido de agua agregada durante el proceso de escaldado el cual varió entre cada prueba. Por lo anterior, se tomó el peso antes y después del proceso térmico con el fin de estimar el agua absorbida en esta etapa y se consideró para los cálculos finales. La importancia del agua añadida reside en que el contenido de agua impacta en la concentración de los sólidos solubles, los cuales serán utilizados por los microorganismos para fermentar el medio. Adicionalmente, la adición de agua para las soluciones frescas afectó el rendimiento tras el filtrado por lo que fue necesario cuantificar el agua total utilizada tanto para escaldar, como para licuar.

El contenido mínimo de sólidos solubles presentes en bases vegetales para la fermentación difiere entre estudios. La aplicación de matrices vegetales para elaboración de productos fermentados ha sido estudiada por diversos autores y se ha encontrado que algunos prefieren añadir sacarosa como fuente de carbono. En el estudio por Deziderio et al. (2023) se utilizaron nueces y cereales como fuentes vegetales para elaborar bebidas fermentadas. Se estudió el impacto de utilizar los sólidos solubles propios de las bases vegetales y el ajustar las muestras a 4 °Brix con sacarosa.

A partir de ello, en el presente estudio no se consideró utilizar sacarosa para ajustar los sólidos solubles de las soluciones. Únicamente se buscó que el contenido no fuera inferior a 1 °Brix, tomando como referencia el estudio de Deziderio et al. (2023), cuyo valor mínimo en sus muestras fue este. Por todo lo anterior, se realizaron pruebas para determinar la proporción de agua añadida total en la solución dependiendo del rendimiento y la concentración de sólidos solubles. A continuación, se resumen los resultados de las pruebas:

Cuadro 9. Promedio y desviación estándar para las pruebas de las soluciones de arveja china fresca

	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3
Agua añadida	37.37 %	50.17 %	67.16 %
Sólidos solubles previo al filtrado (° Brix)	4.20 ± 0.20	3.80 ± 0.20	2.40 ± 0.20
Sólidos solubles tras filtrar (° Brix)	4.45 ± 0.20	3.75 ± 0.20	2.43 ± 0.20
pH	6.52 ± 0.02	6.56 ± 0.02	6.87 ± 0.02
Rendimiento	47.96 %	63.60 %	74.90 %

Se observó que añadir un 50 % de agua a las arvejas para procesar, permitió obtener un 63.6 % de rendimiento y los sólidos solubles no fueron inferiores a 1 °Brix, por lo que se consideró como la mejor proporción para trabajar. La prueba 3 también mostró adecuados resultados en cuanto al rendimiento, sin embargo, al agregar más agua se filtra más líquido y se diluyen más los sólidos, por lo que se terminó escogiendo la proporción de 50 % agua para trabajar el proceso de fermentación. Esta solución filtrada se sometió a pasteurización con una temperatura de 70 °C durante 15 minutos para eliminar microorganismos no deseados y concluir la inactivación de enzimas que pueden provocar deterioro (Vielman, 2023).

La solución preparada con harina de arveja china tuvo en consideración estudios previos en la preparación de alimentos fermentado de origen vegetal (Zipori et al., 2024). Se tomó como base la proteína total en la solución dado que el estudio utilizó proteína aislada de guisantes, donde se trabajó con un 4.55 % de proteína total en solución. El contenido de proteína en la harina de arveja china se obtuvo de Samayoa (2021). A continuación, se muestra la proporción estimada de harina de arveja china para la solución:

Cuadro 10. Estimación del contenido de harina de arveja china en la solución

	Proteína aislada de arveja (%)	Harina de arveja china (%)
Proteína	86.5	33.71
Proporción en solución	5.26	13.5 *

* Estimación calculada para alcanzar el porcentaje de proteína deseada en solución (Zipori et al., 2024).

Sin embargo, después de la estimación de 13.5 % de harina de arveja china, se añadió más agua debido a que la consistencia inicial fue muy espesa, con una consistencia de puré y no fue adecuada para trabajar el proceso de fermentación para una bebida. El porcentaje final utilizado de harina de arveja china en la solución fue del 5 % tras evaluar la consistencia con la adición de más agua. Al utilizar esta proporción de harina, la solución fue más fluida y el contenido de sólidos solubles fue de 2.6 ° Brix, por lo que aún fue aplicable al proceso de fermentación.

De acuerdo con la metodología descrita con anterioridad, después de optimizar la composición de las soluciones, la preparación final también pasteurizó a 70 °C durante 15 minutos para eliminar microorganismos no deseados (Vielman, 2023). Se evaluaron siete cepas de microorganismos probióticos para las dos soluciones de arveja china. Los parámetros evaluados para la selección de la cepa probiótica final fueron pH, recuento total del probiótico y aroma. Los probióticos se identificaron por la codificación brindada por ATCC (American Type Culture Collection), de donde provienen los microorganismos. A continuación, se muestran los resultados tras la fermentación de las soluciones:

Cuadro 11. Resultados de la fermentación de la solución de arveja china fresca

Cepas probióticas	pH final	Recuento (log UFC/mL)	Aroma
<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> ATCC 334	3.78	9.64	Fermentado, poco dulce y olor a arveja ligero. Predomina olor a papaya madura
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> ATCC 8014	3.31	9.69	Plátano verde
<i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i> ATCC 19435	3.32	9.60	Plátano verde
<i>Pediococcus acidilactici</i> ATCC 8042	3.40	9.48	Notas verdes, levemente a arveja, plátano verde
<i>Lactobacillus fermentum</i> ATCC 9338	3.35	9.45	Plátano verde, levemente láctico
<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	3.40	9.49	Plátano verde
<i>Lactobacillus paracasei subsp. paracasei</i> ATCC BAA-52	3.41	9.49	Plátano verde, leve a arveja

Se encontró que la mayoría de las cepas presentaron aromas con notas verdes, donde predominó la asociación del aroma al plátano verde. En algunas se percibió ligeramente

aromas propios de la arveja china. Según Zipori et al. (2024), algunos compuestos que dan aromas verdes son el decanal, heptanal, (E)-2-octenal y hexanal. Sin embargo, varios de estos compuestos se refieren a aromas verdes frutales o frescos. Se encontró que realmente los aromas verdes de estas muestras hacen referencia al aroma característico de arvejas o guisantes. Zipori et al. (2024) y El-Youssef et al. (2020), describen este aroma como afrijolado, el cual se debe a compuestos como 2-pentilfuran y 2-etilfuran.

Por su parte, Zhoholeva et al. (2023) describe con mayor detalle los compuestos activos del aroma en preparaciones de arvejas o guisantes. El estudio encontró aromas verdes relativos a las arvejas frescas y afrijolados en el compuesto 3-isobutil-2-metoxipirazina. El-Youssef et al. (2020) menciona que los típicos aromas y sabores afrijolados en arvejas y otros guisantes puede surgir de interacciones entre moléculas y, en consecuencia, no es la percepción de un compuesto solamente.

En general, los aromas encontrados no se percibieron atractivos en las pruebas con arveja china fresca. Sin embargo, se encontró que el sustrato sí fue adecuado para que se produjera la fermentación. El recuento para cada cepa tuvo un crecimiento similar siendo el más bajo de 9.45 log UFC/mL para *Lactobacillus fermentum* ATCC 9338 y el más alto de 9.69 log UFC/mL para *Lactiplantibacillus plantarum* ATCC 8014. Todos los recuentos superaron el mínimo añadido inicialmente de 7 log UFC/mL. Esto también se evidenció por la reducción del pH inicial de 6.56, donde el pH más alto (3.78) fue incluso menor a 4.6, por lo que se concluye con que la fermentación fue satisfactoria.

Los estudios por Zipori et al. (2024) y El-Youssef et al. (2020) precisamente pretendieron dar solución a olores indeseables en preparaciones con arvejas por medio de fermentaciones. Ambos estudios coinciden en que la fuente de arveja china (*Pisum sativum* L) fue la proteína aislada de esta arveja. Esto significa que la materia vegetal fue sometida a un proceso de deshidratación, aislamiento, molienda para obtener un polvo con un contenido proteico superior al 80 %.

Los procesos anteriormente mencionados sí tienen un impacto en los aromas generados durante la fermentación por los cambios estructurales y químicos a los que se expone por temperaturas y/o procesos mecánicos. La elaboración de harina de arveja china requiere someter el vegetal a estos cambios, por lo que se esperaron aromas distintos al utilizar soluciones preparadas con esta harina. Durante el secado, el contenido de algunos compuestos se reduce por la exposición al calor, como los compuestos fenólicos solubles y clorofila. También se promueve la hidrólisis del almidón, generando unidades de carbohidratos más pequeñas; azúcares fermentables (González et al., 2020).

Además, la molienda para obtener la harina puede afectar componentes químicos y algunas características fisicoquímicas de las harinas de arvejas. Se ha encontrado que arvejas procesadas en molino de martillos tuvieron mayores propiedades de hidratación y digestión que los producidos en molino de discos, debiéndose a las diferencias en la fuerza de molienda, generación de calor por fricción y, por tanto, en la capacidad que cada uno tuvo en degradar moléculas de almidón y proteína (Wu et al., 2023). A continuación, se muestran los resultados del crecimiento de las cepas probióticas utilizando la solución de harina de arveja china al 5 % como sustrato:

Cuadro 12. Resultados de la fermentación de la solución con harina de arveja china

Cepas probióticas	pH final	Recuento (log UFC/mL)	Aroma
<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> ATCC 334	3.95	9.60	Láctico, dulce, fresco tipo frutal
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> ATCC 8014	3.37	9.48	Láctico, dulce
<i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i> ATCC 19435	3.42	9.52	Aroma a arveja tostada, dulce, láctico, fresco, olor verde ligero
<i>Pediococcus acidilactici</i> ATCC 8042	3.58	9.46	Láctico, fresco, dulce
<i>Lactobacillus fermentum</i> ATCC 9338	4.53	8.90	Rancio, no huele a fermentación láctica, olor a desecho orgánico
<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4356	3.44	9.63	Similar a kéfir, láctico, aroma a arveja ligero, dulce, frutal, agradable
<i>Lactobacillus paracasei subsp. paracasei</i> ATCC BAA-52	3.51	9.20	Láctico, a kéfir, frutal, fresco, levemente a arveja

Se observa que el uso de harina de arveja china en lugar de arvejas frescas sí mejoraron las características sensoriales de los fermentos. Todas las cepas mostraron un crecimiento similar, exceptuando *Lactobacillus fermentum* ATCC 9338, el cual se redujo de 9.45 a 8.90 log UFC/mL. La cepa con el recuento más alto en este caso fue *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356, la cual pasó de un recuento de 9.49 a 9.63 log UFC/mL con este segundo sustrato. Un estudio en la elaboración de productos fermentados probióticos con otra leguminosa como el guandú (*Cajanus cajan*) con *Lactobacillus acidophilus* ATCC 314 indicó que este tipo de matriz permite el crecimiento del microorganismo debido a la disponibilidad de proteínas, azúcares, micronutrientes y vitaminas B. Se menciona que la diferencia en la viabilidad de la cepa en distintos productos a base de arveja se puede deber al contenido de sólidos en el sustrato (Parra et al., 2013).

Otros estudios han encontrado resultados similares en el recuento de bacterias en pruebas de fermentación con harina de arvejas. A través del tiempo, se encontró que la cantidad total de bacterias en una solución de harina de arveja fermentada con *Lactobacillus rhamnosus* L08 presentó un aumento significativo de 7.85 a 9.25 log UFC/mL de 0 a 12 horas después de la inoculación, respectivamente (Pei et al., 2022). La harina de arveja y el agua utilizada fueron esterilizadas y se preparó una solución al 20 % (p/v) de harina en ambiente estéril. Se utilizó un 3 % (v/v) del cultivo *L. rhamnosus* L08 y luego se incubó a 37 °C a 170 rpm en un agitador de temperatura controlada. Todo ello impactó el crecimiento de la cepa y, en comparación con el presente trabajo, no se trabajó con agitación y las condiciones de incubación fueron de 72 horas a 30 °C y se inoculó con 1 % (v/v) del probiótico. Una temperatura menor durante más tiempo de incubación resultó en recuentos similares, por lo

que se podría considerar modificar tiempos y temperaturas de incubación para iniciar con un recuento menor o mayor dependiendo de las necesidades del fermento.

En cuanto al aspecto sensorial, se encontraron cambios favorables utilizando la solución con harina de arveja china como sustrato. Los aromas fueron más diversos, con menor presencia de notas verdes y afrijoladas y más aromas frutales, frescos y lácticos. Estudios han encontrado que el proceso de fermentación reduce compuestos volátiles responsables de olores desagradables, como aldehídos (nonanal y decanal) y ciertos alcoholes, mientras que se generan nuevos compuestos como ésteres, que aportaron aromas frutales y florales (Pei et al., 2022). Esto también coincide con los estudios de Zipori et al. (2024) y El-Youssef et al. (2020), donde se encontró que la intensidad de sabores y aromas a leguminosa, notas verdes y vegetales se redujeron durante la fermentación. Sin embargo, la reducción de estas notas fue significativamente mayor en presencia de levaduras.

A partir de lo anterior, se determinó que utilizar la solución con harina de arveja permite obtener resultados organolépticos atractivos para aplicar a un producto como una bebida probiótica. De las pruebas con este sustrato, se escogieron las cepas *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 y *Lacticaseibacillus paracasei* ATCC 334 para utilizar en la formulación de la bebida probiótica por resultar en un recuento alto y caracterizarse por aromas frutales agradables. Se encontró, por tanto, que es viable el uso de arveja china de descarte transformada en harina para utilizarse como sustrato fermentable en la preparación de una base fermentada con probióticos del tipo lactobacilos.

B. Aplicación de la base fermentada para la formulación de la bebida probiótica

En esta etapa se planteó desarrollar y optimizar la formulación de una bebida probiótica a partir de la combinación del mejor sustrato y cepa probiótica. Por lo anterior, se encontró que dos combinaciones atractivas entre sustrato y cepa probiótica es el uso de harina de arveja china en solución fermentada, una con *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 y otra con *Lacticaseibacillus paracasei* ATCC 334. Ambas combinaciones mostraron un adecuado recuento de microorganismos, además de un atractivo sensorial en los aromas generados por ambas cepas.

Inicialmente, se consideró el uso de inulina tomando como referencia el estudio de Wang et al. (2017), quienes desarrollaron una bebida simbiótica a partir de avena. Sin embargo, en el presente trabajo se contempló la importancia de aprovechar al máximo los nutrientes y beneficios propios de la arveja china. Se ha encontrado que extractos acuosos de arveja china mostraron adecuadas propiedades prebióticas, debido a que contiene lignina, celulosa y hemicelulosa (Abd El-Galil et al., 2021). Por tanto, se trabajaron las formulaciones del cuadro 7 sin modificaciones o adición de inulina para utilizar las propiedades de la harina de arveja china.

El uso de pectina y ácido ascórbico fue para dar cuerpo y balancear la acidez del producto, respectivamente. Se tomó como referencia los ingredientes utilizados por Wang et al. (2017) para elaborar una bebida simbiótica de avena. Se inició elaborando únicamente la prueba 1 y se realizó un grupo focal con cinco estudiantes de 20 a 23 años para evaluar la

formulación utilizando un 30 % de la base fermentada con la cepa *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356.

Figura 10. Resumen de atributos destacados durante el grupo focal para la formulación con 30 % de base fermentada y *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356



Figura 11. Resumen de atributos destacados durante el grupo focal para la formulación con 30 % de base fermentada y *Lactobacillus paracasei* ATCC 334



Con base en las respuestas del grupo focal, se consideró la forma en la que se puede ofrecer un producto probiótico. El problema principal fueron los sedimentos de la harina de arveja china que no se suspendieron en la bebida y se asentaron al fondo del recipiente. La posibilidad de filtrarse se contempló para desarrollar un producto carbonatado similar a una kombucha, sin embargo, el atractivo principal del uso de harina de arveja fue el contenido de

fibra, el cual se perdería tras el filtrado. Se continuó formulando con el resto de los porcentajes de base fermentada para evaluar con un panel sensorial completo.

A partir de los comentarios para la bebida formulada con la base fermentada utilizando la cepa *Lacticaseibacillus paracasei* ATCC 334, se tomó la decisión de no continuar realizando pruebas con esta cepa. La mayoría de los comentarios hicieron énfasis en que el olor y sabor no fueron tan agradables para un consumo regular. Predominó el olor a arveja, por lo que no les pareció atractivo. En comparación, la muestra fermentada con *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356, tuvo una mejor aceptación en sabor y aromas, no fue tan notable el contenido a arveja por medio de sabores y/o aromas y se brindaron comentarios positivos sobre la forma de consumo aplicable.

La mayoría de las rutas de formación de compuestos aromáticos en bacterias ácido-lácticas dependen de vías metabólicas funcionales, en lugar de convertir una sola enzima. En sí, la formación de aromas es un proceso complejo que se divide en dos subprocesos: 1) la producción de moléculas precursoras y 2) la conversión de moléculas precursoras en los compuestos aromáticos reales, y estos dos procesos no siempre se dan en el mismo espacio. En caso de que los precursores son encontrados en el medio o la matriz alimentaria en lugar de generarlos por el microorganismo, el primer subproceso se da fuera de la célula (Smid y Kleerebezem, 2014).

Se realizaron pruebas con el resto de las formulaciones planteadas inicialmente y con ellas se realizó un panel sensorial donde participaron 51 personas de 18 a 35 años para conocer la percepción de los atributos de la bebida y la preferencia. Se tuvo en consideración la frecuencia en el consumo de productos funcionales sobre la aceptación y la percepción de los atributos de dulzor, color, acidez y consistencia. En la aceptación general y de aroma se utilizó una escala hedónica de 9 puntos, donde el valor más bajo representó disgusto total por el atributo de la muestra y el valor más alto indicó gusto total por el atributo de la muestra evaluada.

Cuadro 13. Resumen de resultados para la aceptación general en las tres formulaciones de la bebida probiótica

Consumo de productos	Muestra (%)	Aceptación general
Frecuente^a	30	6.65±1.54 ^a
	40	5.81±1.82 ^a
	50	5.77±1.97 ^a
Inusual^b	30	5.96±1.59 ^a
	40	4.80±1.85 ^a
	50	5.16±1.83 ^a

El cuadro 13 resume los resultados para la aceptación general en los dos grupos de consumidores. Se observó diferencia significativa dependiendo de la frecuencia en el consumo de productos funcionales sobre la aceptación de las bebidas, así mismo, la proporción de base fermentada en la bebida mostró diferencia significativa para la totalidad de los datos. Al analizar cada grupo de panelistas, las medias no presentaron diferencia significativa entre las muestras. En el cuadro 14 se presentan los datos del análisis de varianza

de dos factores con interacción entre la frecuencia de consumo y el tipo de muestra, sin embargo, los factores de forma independiente fueron los únicos que mostraron significancia. Se evaluó duramente la aceptación general del producto para los no consumidores de alimentos funcionales. Sin embargo, se observó que el punto más alto fue para la muestra con una proporción de 30 % de la base fermentada para ambos grupos de panelistas. Esto representa que hay un gusto ligeramente superior para esta formulación.

Cuadro 14. *Media y desviación estándar para la aceptación general de las formulaciones de la bebida probiótica*

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Valor F	Valor p	Conclusión
Frecuencia	1	22.68	22.68	6.93	0.00936	Hay diferencia entre la frecuencia
Muestra	2	29.50	14.75	4.510	0.01257	Hay diferencia entre muestras
Interacción	2	1.12	0.56	0.172	0.84239	No hay diferencia por la interacción
Residuales	147	480.86	3.27			

Una bebida simbiótica a partir de avena y *L. plantarum* Vege-Start 60 mostró una aceptación general alrededor de 9 en una escala de 0 a 10. El estudio fue conducido en la Universidad de Jilin, China y todas las evaluaciones sensoriales se realizaron con un panel previamente entrenado de estudiantes. Para tal estudio, fue necesario el entrenamiento, pues la evaluación sensorial fue aplicada para evaluar el impacto del contenido de inóculo inicial, tiempo y temperatura de fermentación, además de realizar un estudio de vida útil sensorial (Wang et al., 2017). Es importante considerar que en el estudio se evaluó la bebida en el día 0 de elaboración y cada semana se fue evaluando la aceptación general. En el presente trabajo, las muestras se realizaron con una semana y media de anticipación, lo que pudo provocar un aumento en la acidez y una percepción distinta para los evaluadores. Otro factor importante para comparar es que China se ha caracterizado por la producción y consumo de diversos productos fermentados, lo que ha permitido acostumbrar sus sentidos a estos aromas y sabores característicos de la fermentación (Xia et al., 2022).

Los valores medios y desviación estándar para la aceptación del aroma de cada muestra de la bebida se resumen en el cuadro 16, igualmente dividido por consumidores y no consumidores de productos funcionales. Para esta evaluación se encontró diferencia significativa en la frecuencia del consumo de este tipo de productos. Las medias de aceptación fueron superiores para los que frecuentan el consumo de productos funcionales, tendiendo a un gusto ligeramente superior.

Cuadro 15. *Media y desviación estándar para la aceptación del aroma en las formulaciones de la bebida probiótica*

Consumo de productos funcionales	Muestra (%)	Aceptación de aroma
Frecuente^a	30	6.42±1.62 ^a
	40	6.38±1.55 ^a
	50	6.00±2.06 ^a
Inusual^b	30	5.96±1.37 ^a
	40	5.16±2.15 ^a
	50	5.20±2.08 ^a

En el cuadro 15 se presentan los datos del análisis de varianza de dos factores con interacción entre la frecuencia de consumo y el tipo de muestra para la aceptación del aroma. Se observó diferencia significativa dependiendo de la frecuencia en el consumo de productos funcionales sobre la aceptación de las bebidas únicamente. Al analizar cada grupo de panelistas, las medias no presentaron diferencia significativa entre las muestras. Se observa en el cuadro 15 cómo el puntaje para cada muestra en el grupo de no consumidores fue menor. Esto puede deberse a la familiaridad que los consumidores de alimentos funcionales tienen a aromas distintos y más complejos presentes en productos funcionales como kombucha, kéfir y otros alimentos.

Cuadro 16. *Resumen del análisis de varianza de dos factores para la aceptación del aroma en las bebidas probióticas*

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Valor F	Valor p	Conclusión
Frecuencia	1	26.29	26.19	7.566	0.00671	Hay diferencia entre la frecuencia
Muestra	2	9.29	4.65	1.337	0.26573	No hay diferencia entre muestras
Interacción	2	3.71	1.86	0.534	0.58732	No hay diferencia por la interacción
Residuales	147	510.82	3.48			

Los atributos de dulzor, color, acidez y consistencia fueron evaluados por los panelistas con una escala implícita “tal como me gusta” de 10 puntos. El valor inferior de la escala representó la percepción más baja del atributo, el valor central indicó ser percibido tal como gusta y el valor más alto mostró que el atributo se percibió muy fuerte. El cuadro 17 presenta los valores medios y desviación estándar para la aceptación del dulzor en cada muestra y dividido en la frecuencia de consumo.

Cuadro 17. *Media y desviación estándar para la aceptación del dulzor en las formulaciones de la bebida probiótica*

Consumo de productos funcionales	Muestra (%)	Aceptación de dulzor
Frecuente	30	5.31±1.54 ^a
	40	4.62±1.88 ^a
	50	4.88±1.91 ^a
Inusual	30	5.48±1.88 ^a
	40	4.44±1.96 ^{ab}
	50	4.04±1.93 ^b

En el cuadro 18 se presentan los datos del análisis de varianza de dos factores con interacción entre la frecuencia de consumo y el tipo de muestra para la aceptación del dulzor. Se encontró diferencia significativa en el factor muestra, para los panelistas que no son consumidores de productos funcionales. Este grupo sí percibió cambios en el dulzor dependiendo del porcentaje de base fermentada en la bebida. El mismo cuadro muestra que la formulación al 30 % de base fermentada mostró un puntaje alrededor de 5, donde se situó el punto central el cual indicó que el atributo se percibió tal como gusta en los dos grupos de panelistas. Este resultado es esperado, pues una menor cantidad de base fermentada permite percibir con mayor facilidad el dulzor de la sacarosa añadida. Las otras formulaciones no se alejan del valor central de la escala, sin embargo, en este atributo se consideró mejor aceptada la formulación con 30 %.

Cuadro 18. *Resumen del análisis de varianza de dos factores para la percepción del dulzor en las bebidas probióticas*

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Valor F	Valor p	Conclusión
Frecuencia	1	3.05	3.05	0.854	0.35704	No hay diferencia entre la frecuencia
Muestra	2	7.15	13.56	3.796	0.02469	Hay diferencia entre muestras
Interacción	2	6.81	3.40	0.952	0.38831	No hay diferencia por la interacción
Residuales	147	525.71	3.58			

El atributo de color también fue evaluado, en el cuadro 19 se muestran los valores medios y desviación estándar para la aceptación de este atributo en cada muestra y dividido en la frecuencia de consumo. En este caso se observó que las muestras fueron calificadas de forma distinta, las muestras con 30 % y 40 % de fermento rondaron más cerca el valor central de aceptación, por lo que pudieron ser percibidas tal como gustan. Sin embargo, en el grupo de consumidores frecuentes, la bebida con 30 % de base fermentada tuvo una calificación

menor, lo que indica que este tipo de consumidores busca un color más oscuro y se buscan un color medio entre ambas formulaciones mencionadas con anterioridad. Los no consumidores de alimentos funcionales mostraron un gusto mayor al color en la formulación con fermento al 30 %. En el grupo de panelistas que sí acostumbran el consumo de estos productos, se observaron diferencias significativas entre la muestra al 30 y al 50 %. Estas muestras se encuentran en una posición inferior y superior, respectivamente, del valor central. La muestra al 40 % obtuvo un valor más cercano al valor central por lo que se infiere que este color fue mejor aceptado. Los no consumidores no mostraron diferencias significativas entre muestras para la aceptación del color.

Cuadro 19. *Media y desviación estándar para la aceptación del color en las formulaciones de la bebida probiótica*

Consumo de productos funcionales	Muestra (%)	Aceptación de color
Frecuente	30	4.62±1.60 ^b
	40	5.96±2.28 ^{ab}
	50	6.58±2.32 ^a
Inusual	30	5.28±1.97 ^a
	40	5.40±2.12 ^a
	50	5.76±2.29 ^a

Para este atributo hubo mayor dispersión en los datos, pues se observan valores de desviación estándar superior a 2, sobre todo para las formulaciones con 40 y 50 % de base fermentada. El cuadro 20 presenta el análisis de varianza para la aceptación del color de la bebida. Los resultados muestran diferencia significativa para las muestras, por lo que se puede decir que el porcentaje de base fermentada provoca cambios en la aceptación del color en la bebida. La aceptación del color es independiente a la frecuencia de consumo de alimentos funcionales. Los consumidores buscan una tonalidad clara, pero que permita apreciar un color natural.

Cuadro 20. *Resumen del análisis de varianza de dos factores para la percepción del color en las bebidas probióticas*

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Valor F	Valor p	Conclusión
Frecuencia	1	2.16	2.16	0.467	0.49532	No hay diferencia entre la frecuencia
Muestra	2	39.46	19.73	4.259	0.01592	Hay diferencia entre muestras
Interacción	2	15.99	7.99	1.726	0.18166	No hay diferencia por la interacción
Residuales	147	681.06	4.63			

La acidez, al igual que los dos atributos anteriores mostró diferencias significativas dependiendo del tipo de muestra. El cuadro 21 resume los valores medios para cada muestra de la bebida en los dos grupos de panelistas. Dado que el valor central fue de cinco se encontró que, para el grupo de consumidores frecuentes, la formulación con 40 % fue más cercana al valor de acidez aceptado, sin embargo, fue menor al deseado por los panelistas. Este tipo de consumidores aprecia la acidez en esta bebida y, considerando que la formulación ya incluye ácido ascórbico y los microorganismos siguen activos, esta acidez se puede alcanzar con el tiempo. Por su parte, el grupo de consumidores inusuales la acidez deseada fue de la muestra con 50 % de base fermentada.

Cuadro 21. *Media y desviación estándar para la aceptación de la acidez en las formulaciones de la bebida probiótica*

Consumo de productos funcionales	Muestra (%)	Aceptación de la acidez
Frecuente	30	4.04±1.63 ^b
	40	4.69±1.77 ^b
	50	6.08±1.75 ^a
Inusual	30	3.56±1.53 ^b
	40	4.36±1.94 ^{ab}
	50	5.32±1.93 ^a

Los resultados anteriores podrían sugerir que existe diferencia dependiendo de la frecuencia en el consumo de productos funcionales. El cuadro 22 muestra que existe diferencia significativa únicamente debido a la muestra. Al analizar los grupos por separado, se observa que en los consumidores frecuentes las muestras al 30 y 40 % son significativamente diferentes frente a la muestra al 50 %. Las primeras dos formulaciones se encuentran por debajo del valor tal como gusta, pero la muestra con 50 % de base fermentada está en un valor superior. Por su parte, los no consumidores mostraron una mejor aceptación para la muestra al 50 %, siendo esta acidez tal como gusta. Es importante que el atributo sea evaluado a través del tiempo para encontrar el punto máximo de aceptación durante el almacenamiento y relacionarlo con el pH para obtener la vida útil sensorial del producto.

Cuadro 22. *Resumen del análisis de varianza de dos factores para la percepción de la acidez en las bebidas probióticas*

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Valor F	Valor p	Conclusión
Frecuencia	1	10.44	10.44	3.226	0.07451	No hay diferencia entre la frecuencia
Muestra	2	93.97	46.99	14.520	1.76e-06	Hay diferencia entre muestras
Interacción	2	1.19	0.59	0.1833	0.83274	No hay diferencia por la interacción
Residuales	147	475.71	3.24			

Finalmente, se evaluó la aceptación de la consistencia de la bebida para las tres formulaciones. Los valores medios y desviación estándar se muestran en el cuadro 23 y se observa que independientemente de la frecuencia en el consumo de productos funcionales, la muestra con 30 % de base fermentada es la más cercana a 5 indicando que es la más aceptada en este atributo.

Cuadro 23. *Media y desviación estándar para la aceptación de la consistencia en las formulaciones de la bebida probiótica*

Consumo de productos funcionales	Muestra (%)	Aceptación de la consistencia
Frecuente	30	5.46±1.25 ^b
	40	6.38±2.00 ^{ab}
	50	6.69±1.77 ^a
Inusual	30	4.80±1.50 ^b
	40	6.24±2.16 ^a
	50	6.56±1.92 ^a

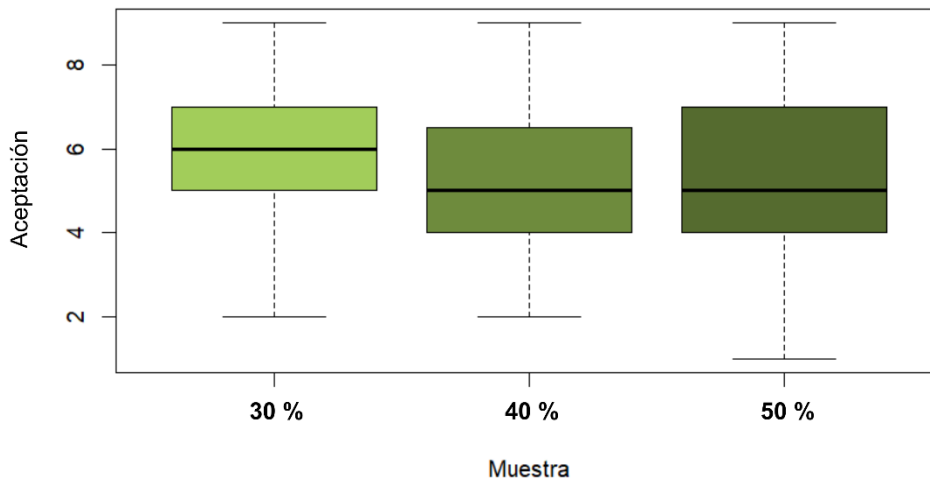
Se observa en el cuadro 24 que, para la aceptación de la consistencia, solo existe diferencia significativa dependiendo del factor muestra. Las formulaciones con mayor proporción de base fermentada tienen un comportamiento esperado en la consistencia, pues la presencia de mayor cantidad de sólidos modifica la percepción y se califica como más espeso. El grupo de consumidores mostró diferencias significativas entre las muestras al 30 y 50 %, siendo la primera la más cercana al valor tal como gusta. Por su parte, los no consumidores mostraron diferencias significativas entre la muestra al 30 % respecto a las otras dos formulaciones. Estas últimas dos muestras fueron valoradas por encima de 5, lo que implica que fueron percibidas como más espesas. La muestra al 30 % también fue mejor calificada en este grupo de consumidores.

Cuadro 24. *Resumen del análisis de varianza de dos factores para la percepción de la consistencia en las bebidas probióticas*

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Valor F	Valor p	Conclusión
Frecuencia	1	3.74	3.74	1.121	0.29155	No hay diferencia entre la frecuencia
Muestra	2	62.95	31.48	9.426	0.00014	Hay diferencia entre muestras
Interacción	2	2.33	1.16	0.348	0.70651	No hay diferencia por la interacción
Residuales	147	490.87	3.34			

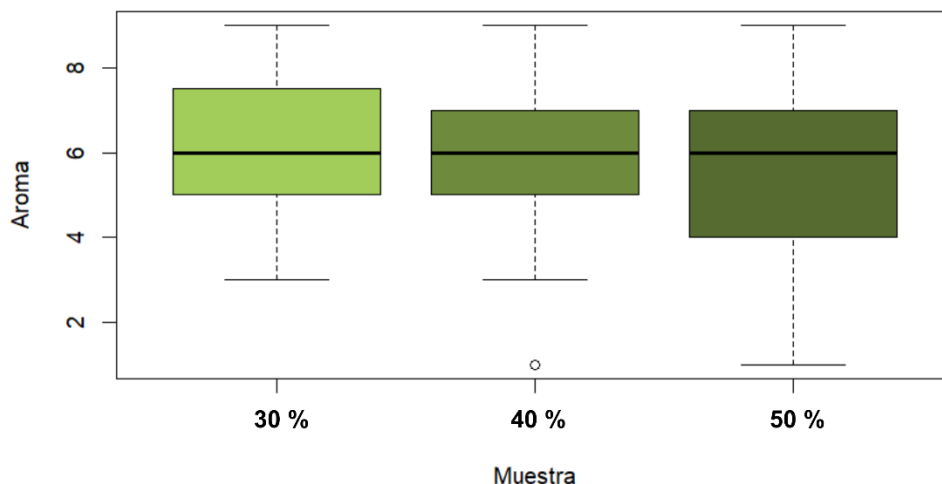
A continuación, se presenta la distribución de los datos en diagramas de caja y bigotes para la aceptación general y de aroma, así como para el resto de los atributos en cada formulación.

Figura 12. *Distribución de resultados para la prueba de aceptación general*



La aceptación general de la formulación con el 30 % de base fermentada presentó una distribución asimétrica (figura 12). El rango de datos se mantuvo alrededor del valor 6 en la escala hedónica, representando que la muestra gustó ligeramente a los panelistas. La formulación con 40 y 50 % mostraron una asimetría positiva, por lo que los datos se concentraron debajo de la mediana, por debajo de 5, el cual representa neutralidad en la aceptación general. Por tanto, si los datos se concentraron por debajo de este valor, las muestras gustaron menos.

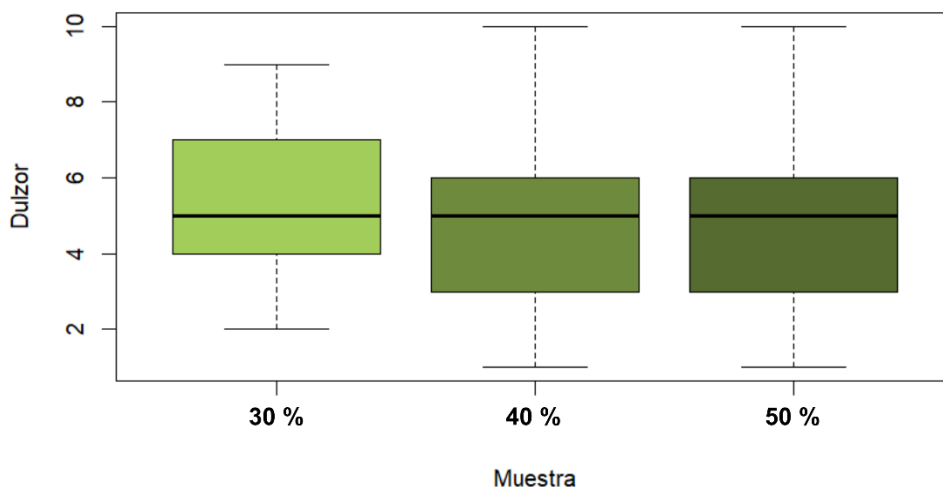
Figura 13. *Distribución de resultados para la prueba de aceptación de aroma*



La aceptación del aroma tuvo una mediana igual para las tres formulaciones alrededor de 6 en la escala (figura 13). Los datos de la formulación con 40 % presentó simetría en comparación a las otras dos muestras, sin embargo, hubo mayor dispersión en la formulación con 50 % con una asimetría negativa. Mientras que la formulación concentró sus datos debajo

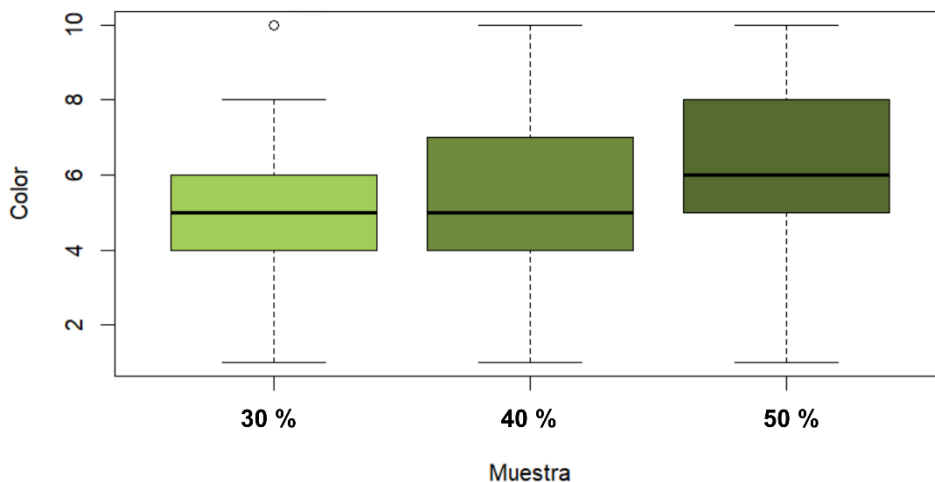
de la mediana, con una asimetría positiva y cuyo rango fue de 5 a 7, aproximadamente. Se encontró un dato atípico para la segunda formulación con un valor cercano a 1.

Figura 14. *Distribución de resultados para la prueba de aceptación del dulzor*



La figura 14 muestra la distribución para el atributo de dulzor con una escala distinta de evaluación en comparación a las figuras 12 y 13. En esta escala TCG, el valor central fue 5 que indicó que el atributo se percibió tal como gusta en la muestra. Considerando lo anterior, se observa que en la formulación con 30 % de base fermentada, los datos se concentran entre un puntaje de 4 y 5, con una distribución asimétrica positiva hubo mayor dispersión en las personas que percibieron la bebida muy dulce. Sucede lo contrario para las formulaciones al 40 y 50 % de base fermentada, pues los datos se concentran arriba de la mediana con una asimetría negativa.

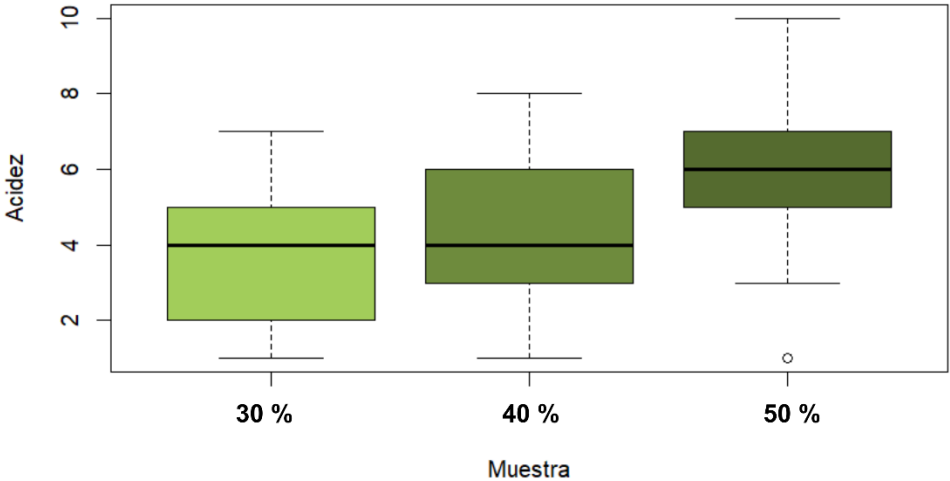
Figura 15. *Distribución de resultados para la prueba de aceptación del color*



Las formulaciones con 30 y 40 % de base fermentada coinciden en el valor de la mediana, igual a cinco. En la figura 15 se observa que la primera formulación presentó un dato atípico alrededor de 10, sin embargo, fue la muestra con menor dispersión en el resto de los datos. El 50 % de ellos se concentran entre el valor de 4 y 6, lo que sugiere que el color

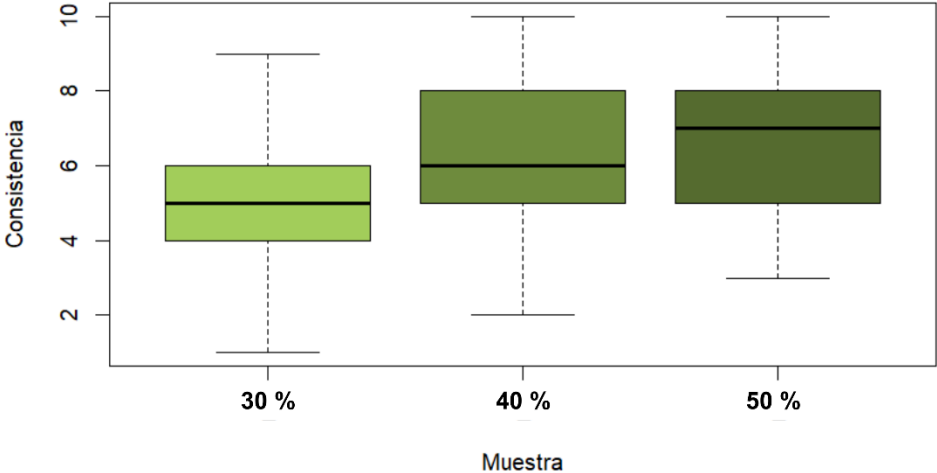
de esta bebida es aceptado con menor variabilidad. Contrario a las otras dos formulaciones, las cuales muestran asimetría positiva. La formulación al 40 % distribuye sus datos entre los valores de 4 y 7 con una mediana de 5. La formulación con mayor proporción de fermento tiene una mediana de 6 y sus datos se distribuyen entre 5 y 7, lo que sugiere que el color de esta muestra se percibió ligeramente más oscura que el resto.

Figura 16. Distribución de resultados para la prueba de aceptación de la acidez



La figura 16 muestra la distribución de los datos en la aceptación de la acidez. La mediana para las muestras con 30 y 40 % de fermento fue de 4, por debajo del valor que indica que la acidez de la muestra fue tal como gusta. Sin embargo, la primera muestra concentra sus datos entre 4 y 5, por lo que se puede considerar una acidez aceptable. La mayoría de los datos de la segunda muestra se distribuye entre los valores de 3 y 6, concentrándose entre 3 y 4, por lo que los panelistas sí percibieron menos ácida esta muestra. Sucede lo contrario para la muestra con 50 % de fermento, la cual fue simétrica con una mediana de 6. La mayoría de los datos de esta muestra estuvieron entre 5 y 7, por lo que a medida que aumenta la concentración de la base fermentada, aumenta la percepción de acidez.

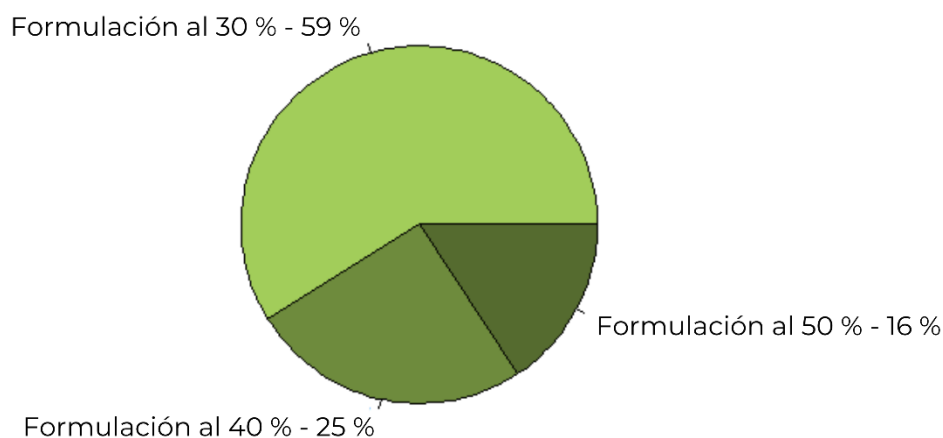
Figura 17. Distribución de resultados para la prueba de aceptación de la consistencia



Las medianas para la aceptación de la consistencia fueron distintas para las tres formulaciones, como se aprecia en la figura 17. La primera muestra presentó simetría en la distribución de sus datos, los cuales se concentran entre 4 y 6, lo que sugiere que la consistencia de esta bebida fue la que más gustó. Con una asimetría positiva, la segunda formulación presentó la distribución de sus datos entre 5 y 8, con una mediana de 6. Se encontró mayor dispersión en los datos por encima de la mediana por lo que, en general, la consistencia fue agradable y solo para algunas personas se percibió un poco espesa. La tercera formulación presentó una asimetría negativa, con una mediana de 7 y sus datos distribuidos entre 5 y 8. Los datos fueron menos dispersos por encima de la mediana, lo que sugiere que esta muestra se percibió como más espesa que el resto.

La preferencia entre muestras también fue evaluada y escogida por los panelistas. La figura 18 muestra proporción de la preferencia para cada formulación de la bebida probiótica.

Figura 18. *Preferencia de las formulaciones de la bebida probiótica*



La preferencia entre muestras también fue evaluada y escogida por los panelistas. Se observa que, después de evaluar los atributos de cada muestra, las personas tuvieron preferencia por la formulación con menor proporción de base fermentada: al 30 %. En segundo puesto se encuentra la formulación con 40 % del fermento, por lo que, si se mejoran los atributos de color, acidez y consistencia, podría ser una formulación más aceptada y que puede aportar mayor contenido nutritivo. Se validó sensorialmente la aplicación de la base fermentada al 30 % para elaborar una bebida probiótica y esta se utilizó para los análisis de las etapas próximas.

C. Determinación de la composición proximal y análisis fisicoquímicos

Tras encontrar la combinación ideal de sustrato y cepa probiótica, formular, optimizar la formulación y validar sensorialmente la mejor bebida probiótica, se buscó caracterizar su perfil nutricional. Se realizó un análisis proximal para evaluar la bebida probiótica con 30 % de la base fermentada con *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 por ser la formulación mejor aceptada. La bebida se liofilizó para poder realizar los análisis en base seca sin perder o degradar los compuestos sensibles al calor por secado convencional. Únicamente el pH y el color fueron tomados con la bebida líquida. A continuación, se presentan los resultados:

Cuadro 25. Promedio y desviación estándar de los resultados del análisis proximal a la bebida probiótica en base húmeda

Componente	Contenido porcentual (%)
Humedad	94.86 ± 0.25
Cenizas	0.19 ± 0.001
Grasa	0.03 ± 0.002
Proteína	0.83 ± 0.01
Carbohidratos totales	4.10 ± 0.25
Fibra dietética	1.23 ± 0.11

La bebida probiótica presentó un 0.19 ± 0.001 % de cenizas, este resultado fue muy similar al obtenido por Wang et al. (2017), quienes desarrollaron una bebida simbiótica con avena (0.14 ± 0.01 %), e inferior a los presentados para las bebidas elaboradas con el gel de guandú (*Cajanus cajan*) fermentado con lactobacilos de Parra et al. (2013) (0.45 ± 0.05 %). Por otro lado, el contenido de grasa fue inferior a 0.05 %, esto fue esperado debido a que la proporción de harina de arveja china utilizada en la bebida fue. Además, estudios mencionan que el atractivo de las arvejas es que son ricas en proteínas, carbohidratos, fibra dietética insoluble, minerales y relativamente bajos en grasas (Pei et al., 2022).

Otras investigaciones han reportado contenidos igualmente bajos de grasa en productos fermentados de origen vegetal. Una bebida simbiótica elaborada a partir de avena presentó un contenido de 0.37 ± 0.02 % (Wang et al., 2017) y Parra et al. (2013), quienes evaluaron el uso de guandú (*Cajanus cajan*) fermentado con lactobacilos para obtener un producto a base de leguminosas, añadiendo ingredientes como leche en polvo y salsas de frutas. Los productos resultantes que incluían leche en su formulación mostraron contenidos de grasa entre 0.13 ± 0.01 % 0.34 ± 0.01 %. Tomando en consideración las tendencias en alimentos saludables, un contenido de grasa bajo atractivo en un producto.

El contenido de carbohidratos totales fue estimado por diferencia, como lo establece Nielsen (2019). Este cálculo no es la medida real del contenido de carbohidratos, pues su exactitud depende en la exactitud del resto de análisis para los otros componentes, sin embargo, es un método requerido por regulaciones en Estados Unidos para la elaboración de etiquetas nutricionales (Nielsen, 2019). El contenido de carbohidratos para los productos con guandú fue variado dependiendo de las formulaciones, pero aquella que solo incluyó un 80 % del gel de guandú y 20 % del cultivo inicial obtuvo un 4.84 ± 0.13 % de carbohidratos totales, similar al contenido de este estudio (Parra et al., 2013). Por su parte, la bebida simbiótica de avena tuvo un 10.70 ± 0.33 % de carbohidratos en su composición (Wang et al., 2017).

La proteína fue un componente que se mostró en un alto porcentaje en base seca, pues el análisis mostró un 14.35 ± 0.22 % de proteína en la bebida. Al convertirlo en base húmeda el contenido proteico de la bebida fue de 0.83 ± 0.01 %. Este resultado se asemeja al de la bebida simbiótica de avena, pues el contenido de proteína fue igual a 0.58 ± 0.02 % (Wang et al., 2017). Los valores más altos y bajos de proteína encontrados en los productos con guandú fueron de 2.03 ± 0.06 % y 4.92 ± 0.22 %, respectivamente. El primer valor corresponde a la formulación que incluyó salsa de fresa con azúcar, y el segundo valor fue para la formulación que incluyó leche descremada en polvo y salsa de banano además del gel


de guandú. Por su parte, la formulación con 80 % gel de guandú y 20 % del cultivo presentó un 3.46 ± 0.06 % de proteína (Parra et al., 2013). Esto sugiere que la adición de otros ingredientes puede contribuir a un mayor contenido de proteína lo cual sería de beneficio para este tipo de productos.

Se ha encontrado que la fermentación ácido-láctica podría aumentar los aminoácidos libres y sus derivados mediante proteólisis y síntesis metabólica. Además, estudios han demostrado que la fermentación mejora el valor nutricional de los cereales porque aumenta el contenido de aminoácidos esenciales como lisina, metionina y triptófano. Tales estudios encontraron que la fermentación fue capaz de mejorar significativamente el contenido de aminoácidos limitantes de las papillas de cultivares de cereales (Pei et al., 2022). Se sugiere profundizar el estudio y caracterización de las proteínas, pues es atractivo el alto contenido proteico de esta bebida y que su sensación en boca no es pesada.

Otro de los componentes atractivos de la arveja china fue la fibra dietética por su posible actividad prebiótica. La bebida presentó un contenido promedio de 1.23 ± 0.11 % el cual fue superior a la bebida simbiótica de avena con un valor de 0.70 ± 0.05 % (Wang et al., 2017). La fibra dietética se clasifica como insoluble y soluble que incluye polímeros de carbohidratos de plantas (oligosacáridos y polisacáridos como gomas, pectina, celulosa, inulina, hemicelulosas, almidón resistente y ciertas fracciones que no son carbohidratos) (Nasir et al., 2022).

Un factor que pudo contribuir al aumento de fibra dietética fue la adición de pectina a la formulación, sin embargo, debe profundizarse pues se adicionó únicamente un 0.05 % de esta goma. Un análisis más completo en la determinación de fibra puede ser una mejora a los análisis del presente trabajo, además de someter a prueba la actividad prebiótica del producto para poder clasificarse como un producto simbiótico.

Cuadro 26. Promedio y desviación estándar de análisis fisicoquímicos de la bebida probiótica

Parámetro	Resultado
Humedad	94.86 ± 0.25 %
pH	3.28 ± 0.03
	CIE LAB (67.94, -2.41, 31.72)
Color	

Además del análisis proximal, el cuadro 26 muestra los resultados de humedad total, pH y color en el espacio CIE LAB. La humedad fue calculada por diferencia de peso durante el proceso de liofilizado. Los productos elaborados con guandú variaron en el contenido de humedad total, sin embargo, la muestra que se elaboró únicamente con gel de guandú y el cultivo inicial presentó el contenido más alto de humedad con 90.98 ± 0.11 %, similar al de la bebida del presente estudio (Parra et al., 2013).

El pH de la bebida fue de 3.28 ± 0.03 , este valor se acerca al presentado por Wang et al. (2017) para la bebida simbiótica de avena. La bebida simbiótica redujo su pH de 6.29 a

3.80 tras 12 horas de incubación, en comparación con la bebida de arveja china, el pH se redujo aún más debido a que el tiempo de incubación fue de 72 horas, permitiendo al microorganismo acidificar más el medio. El comportamiento del microorganismo pudo afectar también la reducción del pH, pues para la bebida simbiótica de avena se utilizó *L. plantarum* como inóculo. En sí, el pH se ve afectado por el microorganismo, el tiempo y la temperatura de incubación, pues en otros estudios se ha encontrado que la fermentación con *L. casei* redujo el pH de un aislado proteico de arveja de 6.5 a 4,6 después de 12 h de fermentación (García et al., 2021).

El color fue un parámetro dependiente del área donde se evaluó la muestra. En el estudio de vida útil se trabajó en el mismo lugar, con el mismo nivel de iluminación para mantener las condiciones y evitar distorsionar el color. El espacio CIE LAB presentado en el cuadro 27 fue determinado y convertido a espacio RGB para poder visualizar el color. Este fue una característica que afectó la aceptación de la bebida en los grupos focales. El principal componente del color en la harina de arveja china es la clorofila, la cual es sensible al pH y la temperatura (González et al., 2020).

Una de las principales complicaciones fue mantener un mismo color en cada *batch* realizado, pues dependió del color con el que se obtenía la harina de arveja china. El secado brusco de la arveja china para elaborar harina provocó un oscurecimiento notable que impactó la apariencia de la solución en una de las pruebas. Esta prueba fue descartada debido a que el color no fue atractivo (ver anexo 29). Se ha encontrado que para temperaturas de secado de 50 y 70 °C para la elaboración de harina, el parámetro de color a^* mostró cambios (-6,41 para 50 °C y -2,98 para 70 °C). Esto indica que la harina se caracterizó por un color verde, que disminuyó a con el aumento de la temperatura por la degradación de la clorofila (González et al., 2020).

D. Determinación de la vida de anaquel y supervivencia de los microorganismos

Una vez planteada la formulación y las principales características físicas y químicas de la bebida, se buscó determinar la estabilidad de la bebida probiótica a través de un estudio de vida útil en condiciones de almacenamiento refrigerado. La naturaleza del producto no permite que se almacene a temperatura ambiente, pues se acerca a la temperatura óptima de crecimiento del microorganismo, reduciendo la vida del producto. Para esta evaluación, se utilizó el método de orden de reacción, el cual se basa en la cinética de las reacciones a una temperatura dada, en este caso 4 °C. El parámetro crítico para determinar el tiempo de vida útil fue el pH debido a que proceso de fermentación ácido-láctica reduce este parámetro a través del tiempo. El producto no debía bajar de un pH de 3.15 para evitar rechazo sensorialmente, por lo que se tomó este valor como el final de la vida útil.

Figura 19. Gráfica de primer orden de reacción para pH

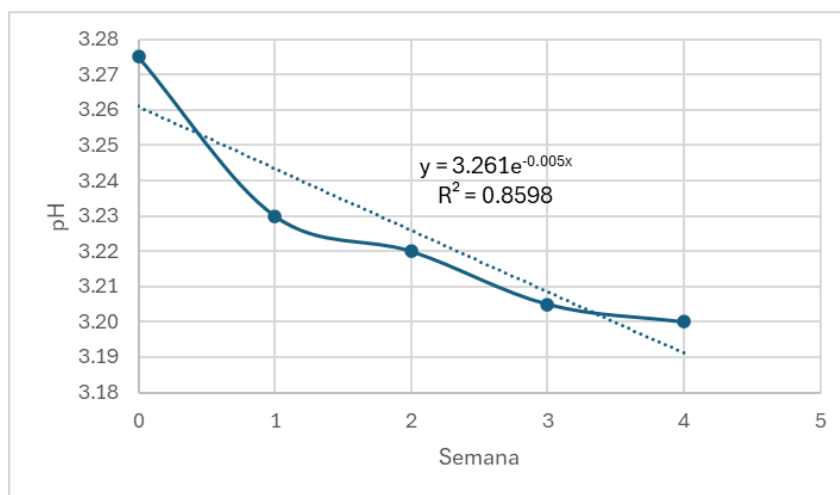
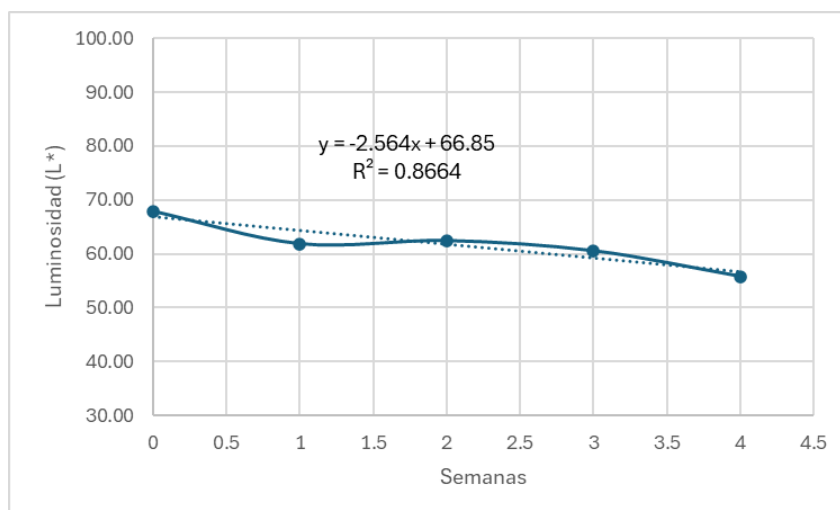


Figura 20. Gráfica de orden cero de reacción para luminosidad (L*)



Cuadro 27. Cambios en el color de la bebida probiótica durante el almacenamiento en refrigeración

Semana	CIE LAB			Color
	L*	a*	b*	
0	67.94	-2.41	31.72	
1	61.88	-1.02	31.33	
2	62.45	-1.74	31.05	
3	60.56	-1.81	35.11	
4	55.78	-0.77	31.75	
Límite	49.78	-0.96	40.69	

El cambio del pH en el tiempo se ajustó de mejor forma al primer orden de reacción ($R^2 = 0.8598$), por lo que se trabajó con una regresión exponencial para estimar el tiempo de vida útil, como se observa en la figura 19. Adicionalmente, se tomaron datos de color en el espacio de color CIE LAB durante el tiempo de almacenamiento en refrigeración. El valor que se ajustó al método orden de reacción fue la luminosidad ($R^2 = 0.8664$), por lo que se utilizó como parámetro secundario para determinar el tiempo de vida útil (figura 20). El resto de los valores del espacio de color tuvieron un comportamiento variable que no se ajustó a ningún orden de reacción (ver anexos 27 y 28); el cuadro 27 muestra los cambios del color a través del tiempo. En el cuadro 28 se resumen los tiempos encontrados con el método tanto para pH como para la luminosidad.

El cambio en el pH se ha encontrado que es más pronunciado durante las primeras horas de la fermentación, pues pasa de valores cercanos a la neutralidad (6 a 7) y alcanza valores inferiores a 4.6. El pH de una solución de harina de arveja se redujo significativamente de 6.24 a 4.11 tras 12 horas de fermentación con *L. rhamnosus* L08; posteriormente, se redujo lentamente (Pei et al., 2022).

En condiciones de refrigeración (4 a 6 °C) durante 28 días, un gel de guandú inoculado con *L. acidophilus* mostró una mayor reducción durante los primeros 3 días. Este gel pasó de 6 a aproximadamente 4.6 en este tiempo, después de ello la reducción fue más lenta y al día 28 el pH no fue inferior a 4. La misma muestra, pero inoculada con *L. casei*, mostró un comportamiento similar, pero con una reducción menor. A los 3 días de almacenamiento el pH se redujo aproximadamente a 5.1 y a los 28 días no bajó más allá de 5 (Parra et al., 2013). Un comportamiento de pH similar al del presente trabajo se dio para la bebida simbiótica de avena, pues el pH fue de 3.65 en la primera semana. Las condiciones de almacenamiento no se especifican, pero la reducción de este parámetro fue mínima en 7 semanas, pasando de 3.65 a 3.4.

Los cambios en el color de productos fermentados en matrices vegetales no han sido ampliamente estudiados. Sin embargo, como se mencionó anteriormente la clorofila es el componente principal en la harina de arveja, la cual es sensible al pH (González et al., 2020). Se han encontrado relaciones entre el contenido de clorofila a y b en arvejas escaldadas a diferentes valores de pH y temperatura. La degradación de ambos tipos de clorofilas en esta matriz sigue un modelo cinético de primer orden (Koca et al., 2007). Esto sugiere que la bebida perdió color verde debido a la degradación de la clorofila durante los procesos térmicos y, luego, durante la reducción de pH en condiciones de almacenamiento.

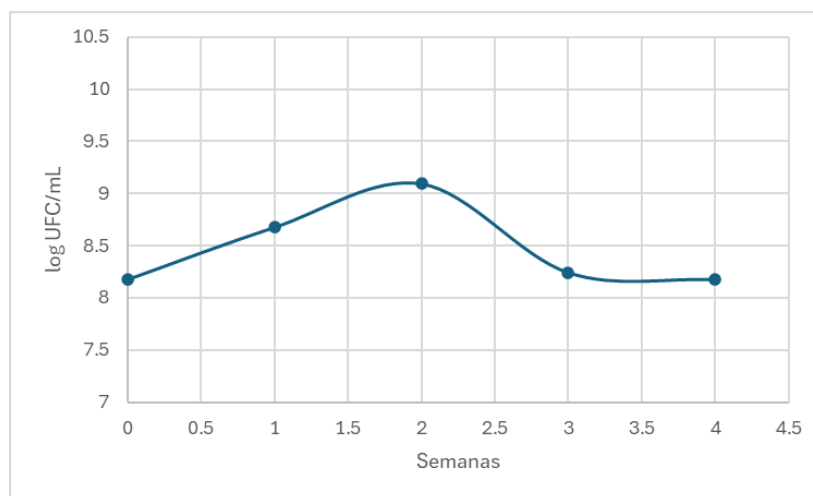
Para este estudio, el cambio más evidente fue la luminosidad de las muestras y este parámetro se ajustó al orden cero de reacción con el cual se estimó el tiempo de vida útil. Se consideró un valor límite de luminosidad donde termina la vida útil debido a que la bebida se vuelve muy oscura (cuadro 27). A continuación, se muestran los resultados de las estimaciones con los modelos cinéticos mencionados:

Cuadro 28. *Tiempo de vida útil estimado para la bebida probiótica por el método de orden de reacción*

Parámetro	Valor límite	Tiempo de vida útil estimado (semanas)
pH	3.15	6.92
Luminosidad (L*)	49.78	6.65

Ambos parámetros mostraron que el tiempo de vida útil para la bebida probiótica es de 6 semanas. A pesar de que estas estimaciones parecen acertadas, la correlación para ambos modelos cinéticos no superó un R^2 de 0.9. Bajo las condiciones con las que se trabajó la bebida, el tiempo recomendado de vida útil es de cinco semanas en refrigeración. A lo largo del presente estudio, se ha encontrado que la carga inicial de microorganismos, el tiempo y la temperatura de incubación son aspectos que impactan el comportamiento de la bebida.

Figura 21. *Comportamiento de Lactobacillus acidophilus ATCC 4356 en la bebida durante el almacenamiento*



Una carga inicial muy alta de microorganismos puede acidificar el sustrato y degradar más el color. De la misma forma, si se le permite al microorganismo crecer durante más tiempo en la incubación de la base fermentada, el recuento inicial en la bebida final será más alto. La importancia de esto reside en que la bebida mantuvo el probiótico activo durante su vida útil por los beneficios que implica, pero esto significa que el microorganismo seguirá fermentando el medio. Se sugiere evaluar el impacto de distintos tiempos de incubación, o bien, establecer un valor límite de pH para detener la incubación y evitar que inicie con un pH muy bajo.

La figura 21 muestra el comportamiento del probiótico durante el almacenamiento en refrigeración. La bebida inició con una carga por encima de 8 log UFC/mL, por lo que se podría optimizar el tiempo de vida útil si se reduce esta carga inicial. En 4 semanas, el probiótico se mantuvo relativamente estable, después de las dos semanas, redujo su crecimiento.

Cuadro 29. Recuento de mohos y levaduras durante un mes

Semana	Mohos y levaduras (UFC/mL)
1	<1
2	<1
3	<1
4	<1

La acidez del medio pudo evitar el crecimiento de coliformes en caso de contaminación, sin embargo, no se podía garantizar ausencia de mohos y levaduras en estas condiciones. Se realizaron recuentos durante las cuatro semanas de almacenamiento, pero no se observó crecimiento de estos microorganismos. Por la naturaleza del producto, este se puede clasificar en el grupo 14 y subgrupo 14.3 del RTCA 67.04.50:17 Criterios Microbiológicos para la Inocuidad de los Alimentos, pues es una bebida no pasteurizada. El control para esta debe ser con *Escherichia coli* y *Salmonella spp.*, sin embargo, se considera que el recuento de mohos y levaduras son una prueba de calidad necesaria adicional para garantizar un buen manejo del producto.

VIII. CONCLUSIONES

- Se formuló una bebida probiótica utilizando 30 % (p/p) de una base fermentada con 5 % (p/p) de harina de arveja china de descarte y 1 % (v/v) de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 como única cepa probiótica determinando que estas condiciones fueron adecuadas para que se diera la fermentación y obtener un producto atractivo sensorial y nutricional.
- El uso de la harina de arveja china de descarte en solución fue un sustrato fermentable adecuado para el crecimiento de siete cepas probióticas al obtener recuentos superiores a 8 log UFC/mL y aromas atractivos para la aplicación en productos, por lo que sí es viable su aprovechamiento en productos funcionales fermentados.
- Se encontró que formular una bebida con un 30 % (p/p) de base fermentada de harina de arveja china y *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356, sacarosa (6 % p/p), pectina (0.05 % p/p) y ácido ascórbico (0.06 % p/p) fue adecuada para desarrollar un producto con probióticos activos y atractivo sensorial debido a los aromas que aporta la fermentación ácido-láctica de esta cepa.
- Se encontró que esta formulación fue aceptada a través de evaluación sensorial con un punteo de 6 puntos y con atributos de dulzor, color, acidez y consistencia, tal como gustan a los consumidores; además, es una bebida que aporta beneficios nutricionales con un atractivo contenido de fibra dietética y proteína, además de probióticos activos.
- Se determinó que la vida útil de la bebida en refrigeración es de cinco semanas, considerando como parámetros críticos el pH y la luminosidad del color, a través de modelos cinéticos de orden de reacción, por lo que es necesario el estudio de uso de aditivos o cambios en la formulación para alargar el tiempo si se desea lanzar al mercado.

IX. RECOMENDACIONES

- Se recomienda determinar la actividad prebiótica del producto, por lo que se sugiere realizar un análisis completo de la fibra y una digestión simulada para evaluar su efecto prebiótico real y poder garantizar la simbiosis de la bebida.
- Se recomienda evaluar la composición proteica de la bebida fermentada con técnicas como electroforesis y medir su digestibilidad como análisis adicionales al producto.
- Se recomienda evaluar tiempos y temperaturas de incubación distintas a las utilizadas en el presente trabajo para reducir la carga inicial de microorganismos, retardando la reducción del pH de la base fermentada y, así, alargar la vida útil del producto.
- Se sugiere realizar un estudio de cinética de crecimiento del probiótico para conocer con exactitud las fases de latencia, exponencial, estacionaria y de muerte como método alternativo para determinar la vida útil del producto.
- En este trabajo se utilizaron las cepas individuales, por lo que se sugiere evaluar las interacciones entre cepas probióticas y mejorar los beneficios del producto.

X. REFERENCIAS

- Abd El-Galil, A. A., El-Dein, A. N., Awad, H. M., & Helmy, W. A. (2021). Chemical composition and biological activities of aqueous extracts and their sulfated derivatives of pea peel (*Pisum sativum* L.). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 102077. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102077>
- AGEXPORT. (2024). *Guatemala en cifras. Arveja y Vegetales*. <https://www.export.com.gt/fundarveja/guatemala-en-cifras/>
- Appleton, R. (2019). *5 Trends in Functional Foods & Beverages*. Whole Foods Magazine. <https://www.wholefoodsmagazine.com/articles/12968-5-trends-in-functional-foods-beverages>
- Bamigbade, G. B., Subhash, A. J., Kamal-Eldin, A., Nyström, L., & Ayyash, M. (2022). An updated review on prebiotics: Insights on potentials of food seeds waste as source of potential prebiotics. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(18), 5947. <https://doi.org/10.3390/molecules27185947>
- Bernal Castro, C. A., Díaz-Moreno, C., & Gutiérrez-Cortés, C. (2017). Probióticos y prebióticos en matrices de origen vegetal: Avances en el desarrollo de bebidas de frutas. *Revista chilena de nutrición*, 44(4), 383-392. <https://dx.doi.org/10.4067/s0717-75182017000400383>
- Blandón, A. (2024, febrero 2). Explorando el potencial de la proteína de arveja China - ASPIRE. *ASPIRE*. <https://aspire.uvg.edu.gt/blog/portfolio-item/explorando-el-potencial-de-la-proteina-de-arveja-china/>
- Bressani, R., Rodas, B., Colmenares, A. S., & Cifuentes, R. (2019). Caracterización química y nutricional de la arveja china. *Revista de la Universidad del Valle de Guatemala*, Centro de Estudios Agrícolas y Alimentarios, Instituto de Investigaciones, Universidad del Valle de Guatemala, 116-122. <https://repositorio.uvg.edu.gt/xmlui/handle/123456789/5316>
- Cabezas, E. V. (2016). *Caracterización físico, química, sensorial y funcional de la proteína aislada de la arveja (Pisum sativum)* (Tesis doctoral, Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana).
- Calderón, L., Dardón, D., Márquez, J., & Del Cid, M. (2000). *Manejo integrado del cultivo de arveja china*. Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA). <https://www.icta.gob.gt/publicaciones/Arveja/Manejo%20integrado%20del%20cultivo%20de%20Arveja%20china%202000.pdf>
- Chumil, H. (2016). *Evaluación de programas de fertilización en variedades de arveja china; Tecpán Guatemala, Chimaltenango* [Tesis de licenciatura]. <http://recursosbiblio.url.edu.gt/tesisjcem/2016/06/14/Chumil-Henry.pdf>

- Colmenares, A. (2023). *Prevención y tratamiento de pérdidas postcosecha de arveja china y arveja dulce en Chimaltenango y Sacatepéquez*.
- Colmenares, A. (2024). *Prevención y tratamiento de pérdidas postcosecha de arveja china y arveja dulce en Chimaltenango y Sacatepéquez*.
- Córdoba, M., Chaves, C., y Arias, M. (2009). Identificación, cuantificación y determinación del perfil de sensibilidad a antibióticos de bacterias prebióticas adicionadas a productos de consumo frecuente en Costa Rica. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 59(2), 179-183.
http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222009000200010&lng=es&tlng=es
- Corrales Benedetti, D., y Arias Palacios, J. (2020). *Los probióticos y su uso en el tratamiento de enfermedades*. Universidad de Cartagena.
- Deziderio, M. A., de Souza, H. F., Kamimura, E. S., y Petrus, R. R. (2023). Plant-based fermented beverages: Development and characterization. *Foods*, 12(22), 4128.
- DÖHLER. (2019). *Döhler goes Plant-Based | Ingredients & Nutrition*.
https://cdn.ymaws.com/ifu-fruitjuice.com/resource/collection/8B68D7D4-37C7-4B6A-91F5-F8F502FEE514/Plant-Based_Ingredients_-_Cibus_Tec_2019.pdf
- El-Youssef, C., Bonnarme, P., Fraud, S., Péron, A. C., Helinck, S., y Landaud, S. (2020). Sensory improvement of a pea protein-based product using microbial co-cultures of lactic acid bacteria and yeasts. *Foods*, 9(3), 349.
- Flores, G., Lau, S., Ramos, A., Prem, L., y Mazariegos, A. (2016). *Aprovechamiento de hortalizas de rechazo de exportación en el desarrollo de productos* [Tesis de grado].
https://repositorio.uvg.edu.gt/static/flowpaper/template.html?path=/bitstream/handle/123456789/4041/UVG_MegaProyecto_ConsolidadoCorreccionesFinales3.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia -Unicef-. (2023). *The state of food security and nutrition in the world 2023*. ISBN 978-92-5-137226-5
- García, V., Leffler, S., Muranyi, I., Eisner, P., y Schweiggert-Weisz, U. (2021). Sensory profile, functional properties and molecular weight distribution of fermented pea protein isolate. *Current Research in Food Science*, 4, 1-10.
- Gonzalez, M., Alvarez-Ramirez, J., Vernon-Carter, E. J., Alvarez-Poblano, L., y Reyes, I. (2020). Effect of the drying temperature on color, antioxidant activity and in vitro digestibility of green pea (*Pisum sativum* L.) flour. *Starch - Stärke*, 1900228.
<https://doi.org/10.1002/star.201900228>
- Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá (INCAP). (1996). *Tabla de composición de los alimentos*. INCAP.

- Játiva-Mariño, E., Manterola, C., Macias, R., y Narváez, D. (2021). Probióticos y prebióticos. Rol en la terapéutica de la enfermedad diarreica aguda infantil. *International Journal of Morphology*, 39(1), 294-301. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022021000100294>
- Jimenez Porras, G. (2011). *Sustainable upgrading of smallholders in global agri-food chains* [Tesis doctoral, Tilburg University].
- Kerry, R. G., Patra, J. K., Gouda, S., Park, Y., Shin, H. S., y Das, G. (2018). Benefaction of probiotics for human health: A review. *Journal of Food and Drug Analysis*, 26(3), 927-939. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.01.002>
- Koca, N., Karadeniz, F., y Burdurlu, H. S. (2007). Effect of pH on chlorophyll degradation and colour loss in blanched green peas. *Food Chemistry*, 100(2), 609–615. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.079>
- Larrea Santos, V., Quiles Chuliá, M. D., Hernando Hernando, M. I., y Morell Esteve, P. (2023). *Alimentos funcionales: probióticos, prebióticos y simbióticos*. Universitat Politècnica de València. <http://hdl.handle.net/10251/191694>
- Las Naciones Unidas en Guatemala. (2024). *Objetivos de Desarrollo Sostenible | Las Naciones Unidas en Guatemala*. <https://guatemala.un.org/es/sdgs>
- Li, X., Wang, J., Qu, Y., Li, Y., Humaira, Y., Muhammad, S., Pu, H., Yu, L., y Li, H. (2022). Comparison of storage and lignin accumulation characteristics between two types of snow pea. *PLoS One*, 17(7), e0268776. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0268776>
- Masiá, C., Jensen, P. E., Petersen, I. L., y Buldo, P. (2022). Design of a functional pea protein matrix for fermented plant-based cheese. *Foods*, 11, 178. <https://doi.org/10.3390/foods11020178>
- Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAGA). (2014). *Perfil comercial: Arveja china*. <https://www.maga.gob.gt/download/Perfil%20arveja%20china.pdf>
- Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAGA). (2016). *El agro en cifras 2016*. <https://www.maga.gob.gt/download/El%20agro16.pdf>
- Ministerio de Salud y Asistencia Social (MSPAS). (2017). *RTCA 67.04.50:17 Criterios microbiológicos para la inocuidad de los alimentos*. Control de Alimentos.
- Mintel. (2024). *The Future of Juice & Juice Drinks - 2024: Consumer market research report*. Mintel Store. <https://store.mintel.com/report/the-future-of-juice-and-juice-drinks#accordion-subheading-1-product-toc>
- Myeong Hwa Cha, Lee, J., y Song, M. J. (2010). Dieticians' intentions to recommend functional foods: The mediating role of consumption frequency of functional foods. *Nutrition Research and Practice*, 4(1), 75-81. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2830418>

- Nasir, G., Zaidi, S., Tabassum, N., y Asfaq, E. (2022). A review on nutritional composition, health benefits and potential applications of by-products from pea processing. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 14. <https://doi.org/10.1007/s13399-022-03324-0>
- Oficina Económica y Comercial de España en Guatemala. (2021). *Informe económico comercial Guatemala*. https://www.mapa.gob.es/es/ministerio/ministerio-exterior/america-central-caribe/2021aginformeconomicocomercialofecom_tcm30-84503.pdf
- Olvera-Rosales, L. B., Cruz-Guerrero, A. E., Ramírez-Moreno, E., Quintero-Lira, A., Contreras-López, E., Jaimez-Ordaz, J., Castañeda-Ovando, A., Añorve-Morga, J., Calderón-Ramos, Z. G., Arias-Rico, J., & González-Olivares, L. G. (2021). Impact of the gut microbiota balance on the health-disease relationship: The importance of consuming probiotics and prebiotics. *Foods*, 10(6), 1261. <https://doi.org/10.3390/foods10061261>
- Orberá, T. (2004). Acción perjudicial de las levaduras sobre los alimentos. *Revista Cubana de Salud Pública*, 30(3). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-34662004000300016&lng=es&tlng=es
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación -FAO-. (1970). *Amino-acid content of foods and biological data on proteins*. FAO, Food and Nutrition Series. <https://www.fao.org/3/AC854T/AC854T00.htm#TOC>
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación -FAO-. (2024). *Erick Roblero: “Gracias a la producción integrada y sostenible he levantado mi economía” | FAO en Guatemala*. <https://www.fao.org/guatemala/programas-y-proyectos/historias-de-exito/erick-roblero/en/#:~:text=En%20Guatemala%20el%2055%25%20de,locales%2C%20nacionales%20y%20de%20exportaci%C3%B3n>
- Parra, K., Ferrer, M., Piñero, M., Barboza, Y., y Medina, L. M. (2013). Use of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* for a potential probiotic legume-based fermented product using pigeon pea (*Cajanus cajan*). *Journal of Food Protection*, 76(2), 265–271.
- Pei, M., Zhao, Z., Chen, S., Reshetnik, E. I., Griбанова, S. L., Li, C., Zhang, G., Liu, L., y Zhao, L. (2022). Physicochemical properties and volatile components of pea flour fermented by *Lactobacillus rhamnosus* L08. *Food Bioscience*, 46. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101590>
- R Core Team. (2024). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>
- Redilac. (2015). *Sector de arveja*. <http://www.redilacg.org/arveja-gm>

- Rolim, P. M. (2015). Development of prebiotic food products and health benefits. *Food Science and Technology*, 35, 3–10.
- Rosa, M. C., Carmo, M. R. S., Balthazar, C. F., Guimarães, J. T., Esmerino, E. A., Freitas, M. Q., y Cruz, A. G. (2021). Dairy products with prebiotics: An overview of the health benefits, technological and sensory properties. *International Dairy Journal*, 117, 105009. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105009>
- Smid, E. J., y Kleerebezem, M. (2014). Production of aroma compounds in lactic fermentations. *Annual Review of Food Science and Technology*, 5(1), 313–326. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030713-092339>
- Spizzirri, U. G., Loizzo, M. R., Aiello, F., Prencipe, S. A., y Restuccia, D. (2023). Non-dairy kefir beverages: Formulation, composition, and main features. *Journal of Food Composition and Analysis*, 117, 105130.
- Srivastava, S. (2023). Protein shake market growth and status explored in a new research report 2032. <https://www.linkedin.com/pulse/protein-shake-market-growth-status-explored-new-2032-srivastava/>
- Tadesse, S. (2012). Probiotics, prebiotics and synbiotics as functional food ingredients: Production, health benefits and safety. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 2(3), 124–134. <https://doi.org/10.1080/22311866.2012.10719119>
- Teame, T., Wang, A., Xie, M., Zhang, Z., Yang, Y., Ding, Q., y Zhou, Z. (2020). Paraprobiotics and postbiotics of probiotic *Lactobacilli*, their positive effects on the host and action mechanisms: A review. *Frontiers in Nutrition*, 7, 570344.
- Terrén, A., de Diego, A. M. G., García, A. G., y Maroto, M. (2020). Probióticos, paraprobióticos y obesidad infantil. *Actualidad en Farmacología y Terapéutica*, 18(1), 42–50. <https://www.socesfar.es/wp-content/uploads/2021/09/Probioticos-paraprobioticos-y-obesidad-infantil.pdf>
- Trujillo, K. (2010). *Preparación y caracterización química y funcional de una harina de arveja dulce (Pisum sativum var. saccharatum) deshidratada y su posible utilización en la industria de cremas en polvo a base de maíz* [Tesis de grado]. <https://repositorio.uvg.edu.gt/xmlui/bitstream/handle/123456789/2707/Trujillo%20Coronado,%20Kareen%20Irene.pdf?sequence=1>
- Wang, C., Liang, S., Wang, H., y Guo, M. (2017). Physicochemical properties and probiotic survivability of symbiotic oat-based beverage. *Food Science and Biotechnology*, 27(3), 735–743. <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0290-0>
- Wegh, C. A. M., Geerlings, S. Y., Knol, J., Roeselers, G., y Belzer, C. (2019). Postbiotics and their potential applications in early life nutrition and beyond. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(19), 4673. <https://doi.org/10.3390/ijms20194673>

- Wu, D. T., Li, W. X., Wan, J. J., Hu, Y. C., Gan, R. Y., y Zou, L. (2023). A comprehensive review of pea (*Pisum sativum* L.): Chemical composition, processing, health benefits, and food applications. *Foods*, 12(13), 2527. <https://doi.org/10.3390/foods12132527>
- Xia, A., Jiang, Y., Li, B., Wang, T., Zhao, J., Liu, X., y Chen, W. (2022). Indigenous Chinese fermented dairy products: Microbial diversity, flavour, and health benefits. *International Dairy Journal*, 135, 105479.
- Zhogoleva, A., Alas, M., y Rosenvald, S. (2023). Characterization of odor-active compounds of various pea preparations by GC-MS, GC-O, and their correlation with sensory attributes. *Future Foods*, 8, 100243.
- Zipori, D., Hollmann, J., Rigling, M., Zhang, Y., Weiss, A., y Schmidt, H. (2024). Rapid acidification and off-flavor reduction of pea protein by fermentation with lactic acid bacteria and yeasts. *Foods*, 13(4), 588.

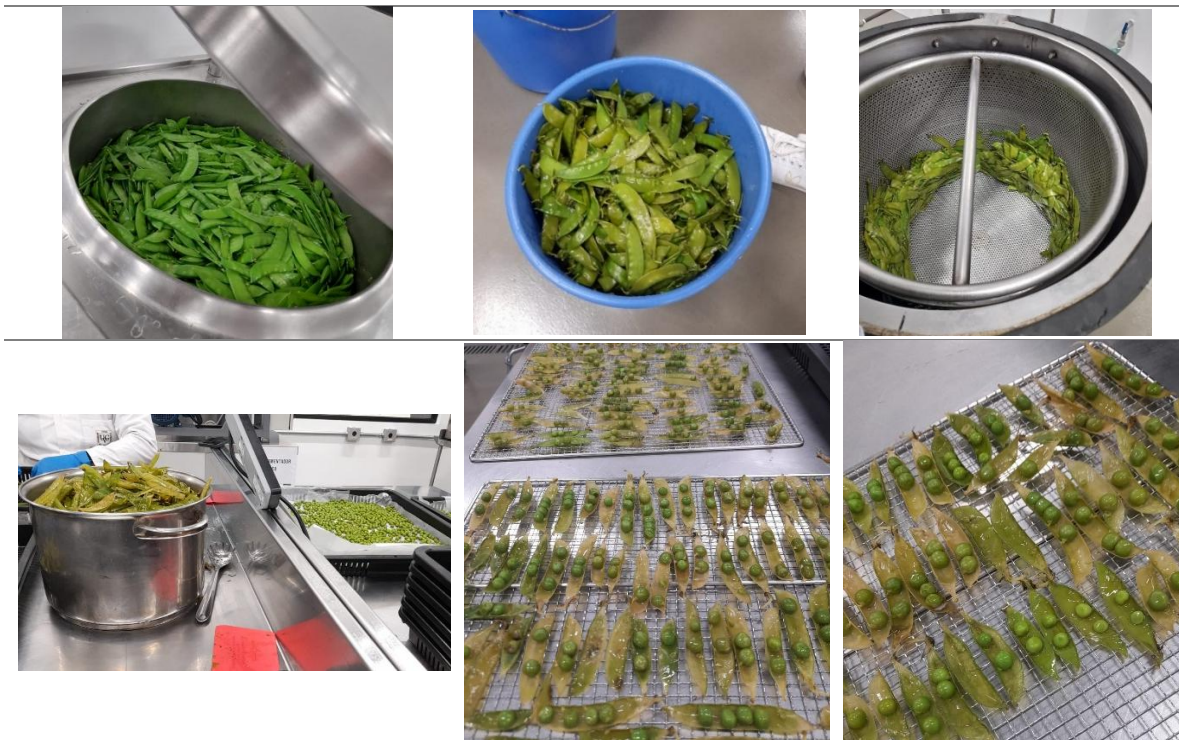
XI. ANEXOS

A. Preparación de la base fermentada de arveja china (*Pisum sativum L.*) para la bebida simbiótica

Anexo 1. Pruebas para la determinación del contenido de agua en la solución de arveja china fresca

	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3
Arveja agregada	54.88	55.13	36.24
Agua de escaldado	5.05	5.07	3.33
Agua añadida	27.7	45.32	63.96
Agua total	32.75	50.39	67.29
Arveja sin agua	49.83	50.06	32.91
Arveja base seca	56.87 %	49.83 %	32.84 %
Peso solución	87.63	100.45	100.20
Agua	37.37 %	50.17 %	67.16 %
Sólidos solubles (°Brix) sin filtrar	4.2	3.8	2.4
Sólidos solubles (°Brix) filtrado	4.45	3.65	2.43
Peso filtrado	42.03	63.89	75.05
Rendimiento	47.96 %	63.60 %	74.90 %
pH	6.52	6.56	6.87

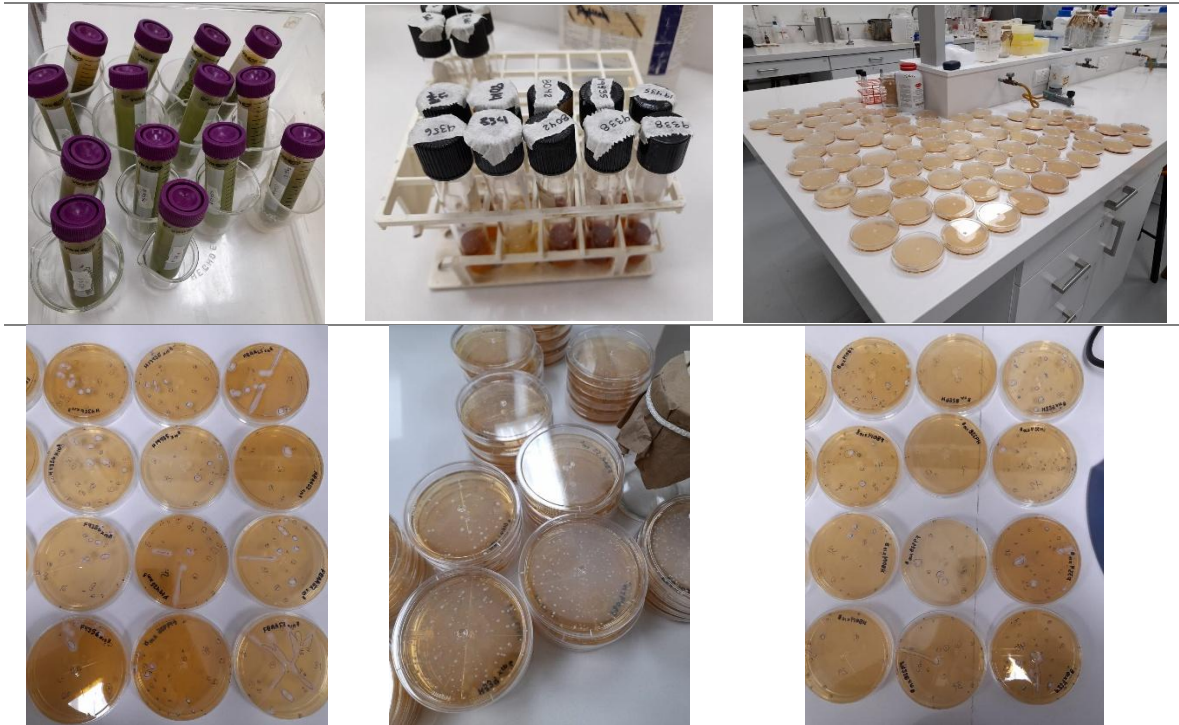
Anexo 2. Acondicionamiento de las arvejas para elaborar harina



Anexo 3. Preparación de soluciones de arveja china fresca



Anexo 4. Recuento en placas con agar MRS de las cepas en los dos tipos de sustratos



B. Aplicación de la base fermentada para la formulación de la bebida probiótica

Anexo 5. Escalonamiento de la base fermentada y primera formulación



Anexo 6. Guía de preguntas para el grupo focal

PREGUNTAS GUÍA GRUPO FOCAL

PARTICIPANTES

Estudiantes de 20 a 23 años de la Universidad del Valle de Guatemala, consumidores o no de productos funcionales como kéfir, kombucha, bebidas proteicas.

DESCRIPCIÓN

El producto que vas a degustar es una bebida probiótica a base de arveja china. Los alimentos probióticos tienen el beneficio de mejorar la salud digestiva, acompañada de una dieta saludable. Te daré una muestra y vas a probarla sin agitarla primero, luego vas a volver a probarla agitando para homogenizar las partículas que se sedimentan.

PREGUNTAS

1. ¿Cómo percibe la bebida en general?
2. ¿Cómo percibe el aroma de la bebida?
3. ¿Cómo percibe el sabor de la bebida?
4. ¿Qué piensa del cuerpo o la textura de la bebida?
5. ¿Qué podría mejorarse?
6. ¿Cómo podría consumir este producto?
7. ¿Tienes comentarios adicionales?

Anexo 7. Resumen de respuestas para grupo focal para la formulación con base fermentada al 30 % con *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356

Pregunta	Resumen de las respuestas
¿Cómo percibe la bebida en general?	<p>Tiene sabores frutales, predomina la pera o manzana.</p> <p>Tiene aromas a compota de frutas infantil. Sabe a un poco a arveja y los sedimentos se sienten como pulpa.</p> <p>Es refrescante.</p> <p>La textura es extraña.</p>
¿Cómo percibe el aroma de la bebida?	<p>Frutal, ligero olor a arveja.</p> <p>Huele a manzana o pera.</p> <p>Similar a una compota de frutas, como pera o manzana.</p> <p>Es agradable, no huele tanto a arveja china.</p> <p>Huele a compota, lo asocio a esto o a jugo diluido.</p>
¿Cómo percibe el sabor de la bebida?	<p>Sabe a manzana y platanina dulce, la acidez es agradable.</p> <p>Se siente sabor a arveja.</p> <p>Se siente un sabor cítrico y a compota a pera.</p> <p>No siento sabor a arveja, es agradable.</p> <p>El dulzor no está mal, refrescante, no hay un sabor específico que acapare el paladar.</p>
¿Qué piensa del cuerpo o la textura de la bebida?	<p>Las partículas se sienten extrañas, no son tan agradables los sedimentos si se piensa que es harina de arveja.</p> <p>No se sienten mal si se piensa como pulpa de pera, tiene una consistencia similar a estas.</p> <p>Se sienten muy gruesas las partículas, se pierde el sabor frutal porque opacan los grumos.</p> <p>Consistencia agradable, similar a un néctar de frutas con pulpa.</p> <p>No me molestan los sedimentos por el tamaño, es más arenoso que pulpa normal, como de una pera.</p>
¿Qué podría mejorarse?	<p>Podría considerar filtrarse porque la “pulpa” no es uniforme y siempre hay que estar agitando.</p> <p>Tiene buen cuerpo si se toma filtrada.</p> <p>En general, sabe mucho mejor si está fría. La textura es extraña, no me tomaría más de un vaso de esto.</p> <p>Imaginaba algo clarificado.</p>
¿Cómo podría consumir este producto?	<p>Refrigerado o con hielos, es refrescante el sabor.</p> <p>Preferiría como shot de bebida probiótica.</p> <p>Podría consumirlo como <i>wellness shot</i> sabiendo que es saludable.</p> <p>Preferiría consumirlo por las mañanas fresco.</p> <p>No lo consumiría, no me gustó.</p>

Comentarios adicionales	<p>Los sedimentos no son molestos si pienso que es un si es <i>super food</i>, no molesta porque parece natural.</p> <p>No es un producto que me quite la sed.</p> <p>Es más refrescante si se filtra, podría parecer una kombucha si se carbonata.</p> <p>Los sedimentos me parecen necesarios si se ofrece como una bebida funcional 100 % natural.</p> <p>Solo no me gustan los sedimentos.</p>
-------------------------	--

Anexo 8. Resumen de respuestas para grupo focal para la formulación con base fermentada al 30 % con *Lactocaseibacillus paracasei* ATCC 334

Pregunta	Resumen de las respuestas
¿Cómo percibe la bebida en general?	<p>No me atrae el olor de la bebida.</p> <p>En comparación a la otra muestra se percibe menos atractiva.</p> <p>No es desagradable, pero la otra estaba mejor.</p> <p>No me gusta para nada.</p> <p>Hay un aroma frutal, pero al fondo se siente otro que es molesto.</p>
¿Cómo percibe el aroma de la bebida?	<p>Frutal, también como a algo pasado.</p> <p>No sé describir este aroma, no me gusta.</p> <p>Similar a una compota de frutas también, pero a frutas ácidas.</p> <p>Se podría decir que al fondo se siente afrijolado como de la arveja, es más fuerte que la otra muestra.</p> <p>Cítrico, a frutas, pero a algo verde también.</p>
¿Cómo percibe el sabor de la bebida?	<p>Sabe a jugo de cítricos, con un resabio no tan agradable.</p> <p>Sabe a jugos, pero me deja un sabor extraño al final, creo que por la arveja.</p> <p>No le siento sabor agradable, parece como vitaminas mezcladas en jugo de naranja.</p> <p>Sí creo que hay un sabor de arveja mucho más fuerte en esta muestra, se mantiene un buen dulzor y la acidez se percibe un poco más.</p> <p>Es rico el sabor, a juguito de caja, pero sí hay un sabor al final que no me termina de gustar.</p>
¿Qué piensa del cuerpo o la textura de la bebida?	<p>Las partículas se sienten extrañas, no son tan agradables.</p> <p>La consistencia es muy similar, es lo mismo prácticamente, las partículas son algo molestas, pero no desagradables.</p> <p>No me gusta la textura tampoco.</p> <p>El cuerpo es igual a la muestra anterior, solo cambia el sabor, parece jugo o néctar de frutas.</p> <p>Los sedimentos no gustan pero son tolerables.</p>

<p>¿Qué podría mejorarse?</p>	<p>Podría considerar filtrarse también, para ver si se reduce el sabor a arveja. Agregar algún saborizante que opaque el sabor a arveja. Tal vez si se carbonata y se filtra sabe mejor. La textura, el sabor y el olor son extraños, no lo consumiría, no podría cambiar algo en específico. Imaginaba algo más con sabores cítricos por el olor, no me gustó.</p>
<p>¿Cómo podría consumir este producto?</p>	<p>No lo consumiría, no me gustó. No me gustó tanto como la muestra anterior, pero si es algo funcional y natural, tal vez solo en <i>shot probiótico</i>. Si se filtra y se agregan saborizantes, tal vez la consumiría, pero siento que perdería el toque de natural y beneficiosa. Quizá no consumiría esto por mi cuenta, pero si me lo ofrecen como un <i>wellness shot</i> tal vez sí; me gustó más que el kéfir. Solo como algo medicinal o de beneficio por sus microorganismos porque, en comparación al otro, siento que no lo compraría como un jugo.</p>
<p>Comentarios adicionales</p>	<p>No me convenció el olor, no sé si fue porque la consumí después de la muestra que sí me gustó. El olor es muy fuerte y la primera impresión es que va a estar feo con mezcla a frutas. No consumiría ninguno de estos productos, pero este fue el que menos me atrajo. Los aromas y sabores a arveja fueron más presentes, de forma ligera siempre, pero se notaban más.</p>

Anexo 9. Preparación de muestras para panel sensorial



Anexo 10. Hoja maestra para el panel sensorial de bebidas probióticas

Hoja maestra

Productos: bebida probiótica a base de harina de arveja china.

Tipo de prueba: aceptación general y preferencia.

Codificación

Formulación	Código
30%	269
40%	635
50%	482

No. Panelista	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
1	269	635	482
2	635	482	269
3	482	269	635
4	269	482	635
5	635	269	482
6	482	635	269
7	269	635	482
8	635	482	269
9	482	269	635
10	269	482	635
11	635	269	482
12	482	635	269
13	269	635	482
14	635	482	269
15	482	269	635
16	269	482	635
17	635	269	482
18	482	635	269
19	269	635	482
20	635	482	269
21	482	269	635
22	269	482	635
23	635	269	482
24	482	635	269
25	269	635	482
26	635	482	269
27	482	269	635
28	269	482	635
29	635	269	482
30	482	635	269
31	269	635	482
32	635	482	269
33	482	269	635
34	269	482	635
35	635	269	482
36	482	635	269
37	269	635	482
38	635	482	269

Continuación Anexo 10

39	482	269	635
40	269	482	635
41	635	269	482
42	482	635	269
43	269	635	482
44	635	482	269
45	482	269	635
46	269	482	635
47	635	269	482
48	482	635	269
49	269	635	482
50	635	482	269
51	482	269	635
52	269	482	635
53	635	269	482
54	482	635	269
55	269	635	482
56	635	482	269
57	482	269	635
58	269	482	635
59	635	269	482
60	482	635	269

Anexo 11. Cuestionario de la evaluación sensorial en Google Forms



Evaluación de bebidas probióticas

El objetivo general de este estudio es analizar la aceptación de diferentes bebidas probióticas. Se le pedirá que califique las muestras de acuerdo con cuánto le gusta cada bebida en cuanto a diferentes aspectos. SI USTED TIENE EXPERIENCIA PREVIA DE CUALQUIER REACCIÓN ALÉRGICA A LAS ARVEJAS O BEBIDAS PROBIÓTICAS, NO DEBE PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO. No hay beneficio directo para usted por participar en este proyecto. Usted es libre de retirarse en cualquier momento y por cualquier motivo.

Su desempeño y los datos de esta investigación son confidenciales. Las respuestas se codifican para ser confidenciales y cualquier publicación o presentación de los resultados de la investigación solo incluirá información sobre el desempeño del grupo. Los nombres u otra información identificable no serán revelados ni publicados.

Se le anima a hacer cualquier pregunta que pueda tener sobre este estudio, ya sea antes o durante su participación.

caj20277@uvg.edu.gt [Cambiar de cuenta](#)



No compartido

* Indica que la pregunta es obligatoria

¿Está de acuerdo con participar en este estudio? *

Sí

No

Continuación Anexo 11

Información demográfica y de consumo

Correo electrónico *

Tu respuesta _____

Edad *

- Menor a 18 años
- 19 a 21 años
- 22 a 24 años
- Arriba de 25 años

¿Con qué frecuencia consumes productos de beneficio para la salud (productos funcionales)? (Ej. batidos de proteína, wellness shots, kefir o probióticos, kombucha) *

- Más de una vez a la semana
- Una vez a la semana
- Una vez al mes
- Casi nunca
- Nunca
- Otro: _____

Ingrese el número de panelista que se encuentra en su bandeja *

Tu respuesta _____

Continuación Anexo 11

Primera muestra

A continuación recibirá 3 muestras de bebida probiótica a base de arveja china. Deguste **de izquierda a derecha** y tome un sorbo de agua entre cada muestra para limpiar su paladar.

Ingrese el código de la muestra a evaluar *

- 269
- 635
- 482

¿Cuánto le gusta la muestra en general? *

Me disgusta muchísimo	Me disgusta mucho	Me disgusta bastante	Me disgusta ligeramente	Ni me gusta ni me disgusta	Me gusta ligeramente	Me gusta bastante	Me gusta mucho	Me gusta muchísimo
<input type="text" value="1"/>	<input type="text" value="2"/>	<input type="text" value="3"/>	<input type="text" value="4"/>	<input type="text" value="5"/>	<input type="text" value="6"/>	<input type="text" value="7"/>	<input type="text" value="8"/>	<input type="text" value="9"/>
1	2	3	4	5	6	7	8	9
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

¿Cuánto le gusta el aroma de la muestra? *

Me disgusta muchísimo	Me disgusta mucho	Me disgusta bastante	Me disgusta ligeramente	Ni me gusta ni me disgusta	Me gusta ligeramente	Me gusta bastante	Me gusta mucho	Me gusta muchísimo
<input type="text" value="1"/>	<input type="text" value="2"/>	<input type="text" value="3"/>	<input type="text" value="4"/>	<input type="text" value="5"/>	<input type="text" value="6"/>	<input type="text" value="7"/>	<input type="text" value="8"/>	<input type="text" value="9"/>
1	2	3	4	5	6	7	8	9
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

Continuación Anexo 11

¿Cómo percibe el dulzor de la muestra? *

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Poco dulce				Tal como me gusta					Es muy dulce
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

¿Cómo percibe el color de la muestra? *

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Muy claro				Tal como me gusta					Muy oscuro
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

¿Cómo percibe la acidez de la muestra? *

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Poco ácido				Tal como me gusta					Muy muy ácido
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

Continuación Anexo 11.

¿Cómo percibe la consistencia de la muestra? *

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
| | | | | | | | | |
Muy ligera Tal como me gusta Muy espesa

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

¿Tienes algún comentario adicional sobre esta muestra? *

Tu respuesta _____

Muestra preferida

Después de haber probado las tres muestras, ¿tienes observaciones adicionales?

¿Cuál de las tres muestras fue tu favorita? *

269

635

482

¿Tienes comentarios adicionales sobre las muestras o sobre el estudio?

Tu respuesta _____

Atrás

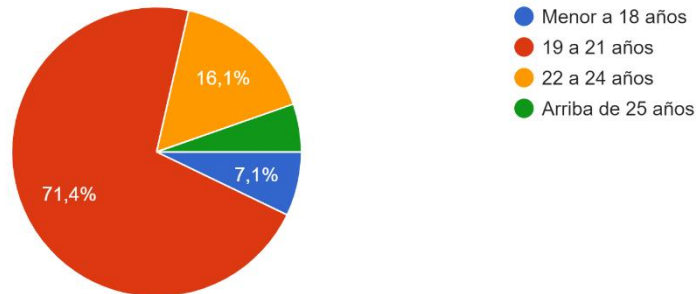
Siguiente

Borrar formulario

Anexo 12. Proporción de edades de los encuestados

Edad

56 respuestas



Anexo 13. Código de R para ANOVA de dos factores en aceptación general y atributos de las bebidas probióticas

```
#Llamando librerías necesarias
library(car)

## Cargando paquete requerido: carData

library(reshape)
library(multcomp)

## Cargando paquete requerido: mvtnorm
## Cargando paquete requerido: survival
## Cargando paquete requerido: TH.data
## Cargando paquete requerido: MASS

##
## Adjuntando el paquete: 'TH.data'

## The following object is masked from 'package:MASS':
##
##   geysers

library(ggplot2)
library(pastecs)
library(tidyverse)

## — Attaching core tidyverse packages ————— tidyverse 2.0.0
—
## ✓ dplyr      1.1.4    ✓ readr      2.1.5
## ✓ forcats   1.0.0    ✓ stringr    1.5.1
## ✓ lubridate 1.9.3    ✓ tibble     3.2.1
## ✓ purrr     1.0.2    ✓ tidyr      1.3.1
```

```

## — Conflicts ————— tidyverse_conflicts()
—
## X tidyr::expand() masks reshape::expand()
## X tidyr::extract() masks pastecs::extract()
## X dplyr::filter() masks stats::filter()
## X dplyr::first() masks pastecs::first()
## X dplyr::lag() masks stats::lag()
## X dplyr::last() masks pastecs::last()
## X dplyr::recode() masks car::recode()
## X dplyr::rename() masks reshape::rename()
## X dplyr::select() masks MASS::select()
## X purrr::some() masks car::some()
## X lubridate::stamp() masks reshape::stamp()
## i Use the conflicted package (<http://conflicted.r-lib.org/>) to force all co
nflcts to become errors

library(MASS)
library(dplyr)
library(mvoutlier)

## Cargando paquete requerido: sgeostat

library(mvnormttest)
library(akima)
library(robustbase)

##
## Adjuntando el paquete: 'robustbase'
##
## The following object is masked from 'package:survival':
##
## heart

library(stats)
library(WRS)

##
## Adjuntando el paquete: 'WRS'
##
## The following object is masked from 'package:robustbase':
##
## hard.rejection
##
## The following objects are masked from 'package:dplyr':
##
## near, pull
##
## The following object is masked from 'package:MASS':
##
## ltsreg
##
## The following object is masked from 'package:car':
##
## ellipse

```

```

##
## The following object is masked from 'package:stats':
##
##   ecdf
##
## The following object is masked from 'package:grDevices':
##
##   bmp

library(agricolae)

#Archivo
library(readxl)
ANOVASensorial <- read_excel("C:/Users/DELL/OneDrive - UVG/Tesis/ANOVASensorial.
xlsx")
View(ANOVASensorial)

#Análisis de varianza
#Factor 1: frecuencia
#Factor 2: formulación de bebida

names(ANOVASensorial)

## [1] "Panelista"      "Frecuencia"     "Muestra"        "Aceptacion"     "Aroma"
## [6] "Dulzor"          "Color"           "Acidez"          "Consistencia"

class("Frecuencia")

## [1] "character"

factor("Frecuencia")

## [1] Frecuencia
## Levels: Frecuencia

class("Muestra")

## [1] "character"

factor("Muestra")

## [1] Muestra
## Levels: Muestra

class("Aceptacion")

## [1] "character"

factor("Aceptacion")

## [1] Aceptacion
## Levels: Aceptacion

#Aceptación general -> hedónica de 9 pts

leveneTest(ANOVASensorial$Aceptacion, interaction(ANOVASensorial$Frecuencia, ANO
VASensorial$Muestra), center=median)

```

```

## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
##      Df F value Pr(>F)
## group  5  0.4788 0.7916
##      147

#Que no sea significativa porque  $p > 0.05$  significa que hay homogeneidad en las varianzas

#alpha de 0.05

#Modelo 1: ANOVA con efectos principales (+): es decir, solo me da efectos de los factores independientes

acceptMod1 <- aov(Aceptacion ~ Frecuencia + Muestra, data = ANOVASensorial)
summary(acceptMod1)

##              Df Sum Sq Mean Sq F value  Pr(>F)
## Frecuencia    1  22.7  22.685   7.013 0.00896 **
## Muestra       2  29.5  14.752   4.560 0.01196 *
## Residuals   149 482.0   3.235
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

anova(acceptMod1)

## Analysis of Variance Table
##
## Response: Aceptacion
##              Df Sum Sq Mean Sq F value  Pr(>F)
## Frecuencia    1  22.68 22.6848   7.0128 0.008964 **
## Muestra       2  29.50 14.7516   4.5603 0.011960 *
## Residuals   149 481.98   3.2348
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

#anova o summary, los puedo usar indistintamente para el anova
#dado que  $p < 0.05$ , si existe diferencia significativa cuando el panelista consume frecuentemente o no productos funcionales en la aceptación general. También existe diferencia significativa por la aceptación general dependiendo del % de fermento en la bebida

#Modelo 2: ANOVA con efectos principales con interacción (*): se multiplican las variables independientes y con esto se identifica la interacción para saber si esta es significativa o no. Si lo es, entonces se usa el ANOVA Tipo III.
#Se analizan por separado los ANOVAS, para identificar si la interacción es significativa para usar el ANOVA Tipo III, si lo uso solo así, puedo cometer un error.

acceptMod2 <- aov(Aceptacion ~ Frecuencia * Muestra, data = ANOVASensorial)
summary(acceptMod2)

##              Df Sum Sq Mean Sq F value  Pr(>F)
## Frecuencia    1  22.7  22.685   6.935 0.00936 **
## Muestra       2  29.5  14.752   4.510 0.01257 *
## Frecuencia:Muestra  2   1.1   0.562   0.172 0.84239
## Residuals   147 480.9   3.271

```

```

## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

anova(acceptMod2)

## Analysis of Variance Table
##
## Response: Aceptacion
##
##           Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
## Frecuencia  1  22.68  22.6848   6.9348 0.009357 **
## Muestra     2  29.50  14.7516   4.5096 0.012567 *
## Frecuencia:Muestra  2   1.12   0.5617   0.1717 0.842389
## Residuals   147 480.86   3.2711
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

#Dado que La interacción me dio que no es significativa porque  $p > 0.05$ , uso el ANOVA Tipo II para resumir el análisis.
Anova(acceptMod2, Type="II")

## Anova Table (Type II tests)
##
## Response: Aceptacion
##
##           Sum Sq  Df F value    Pr(>F)
## Frecuencia    22.68   1   6.9348 0.009357 **
## Muestra       29.50   2   4.5096 0.012567 *
## Frecuencia:Muestra  1.12   2   0.1717 0.842389
## Residuals    480.86 147
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Boxplot(Aceptacion ~ Muestra, data = ANOVASensorial, col=c("darkolivegreen3", "darkolivegreen4", "darkolivegreen"))

## Warning in Boxplot.default(mf[[response]], x, id = list(method = id.method, :
## NAs introducidos por coerción

#Boxplot(Aceptacion ~ Frecuencia, data = ANOVASensorial) ¿puedo unirlos?

mean(ANOVASensorial$Aceptacion)

## [1] 5.699346

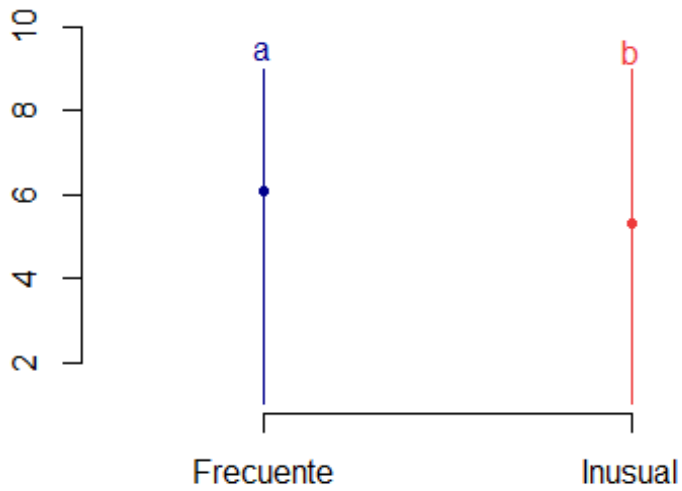
sd(ANOVASensorial$Aceptacion)

## [1] 1.87464

lsdacepgen <- LSD.test(acceptMod1, "Frecuencia", p.adj="bonferroni")
plot(lsdacepgen)

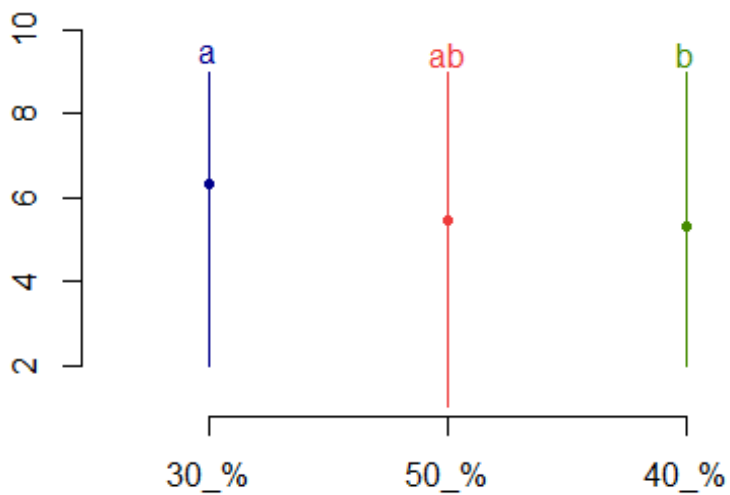
```

Groups and Range



```
lsdacepform <- LSD.test(acceptMod1, "Muestra", p.adj="bonferroni")  
plot(lsdacepform)
```

Groups and Range



```

#Aroma -> hedónica de 9 pts

leveneTest(ANOVASensorial$Aroma, interaction(ANOVASensorial$Frecuencia, ANOVASensorial$Muestra), center=median)

## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
##      Df F value Pr(>F)
## group  5  1.4983 0.1938
##      147

#Que no sea significativa porque  $p > 0.05$  significa que hay homogeneidad en las varianzas

#alpha de 0.05

#Modelo 1: ANOVA con efectos principales (+): es decir, solo me da efectos de los factores independientes

aromaMod1 <- aov(Aroma ~ Frecuencia + Muestra, data = ANOVASensorial)
summary(aromaMod1)

##              Df Sum Sq Mean Sq F value  Pr(>F)
## Frecuencia    1   26.3  26.291   7.614 0.00652 **
## Muestra       2    9.3   4.647   1.346 0.26350
## Residuals   149  514.5   3.453
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

anova(aromaMod1)

## Analysis of Variance Table
##
## Response: Aroma
##              Df Sum Sq Mean Sq F value  Pr(>F)
## Frecuencia    1  26.29  26.2915   7.6136 0.00652 **
## Muestra       2    9.29   4.6471   1.3457 0.26350
## Residuals   149  514.53   3.4532
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

#anova o summary, los puedo usar indistintamente para el anova
#dado que  $p < 0.05$ , sí existe diferencia significativa cuando el panelista consume frecuentemente o no productos funcionales en la aceptación del aroma. No es significativa la muestra en cuanto a la aceptación del aroma.

#Modelo 2: ANOVA con efectos principales con interacción (*): se multiplican las variables independientes y con esto se identifica la interacción para saber si esta es significativa o no. Si lo es, entonces se usa el ANOVA Tipo III.
#Se analizan por separado los ANOVAS, para identificar si la interacción es significativa para usar el ANOVA Tipo III, si lo uso solo así, puedo cometer un error.

aromaMod2 <- aov(Aroma ~ Frecuencia * Muestra, data = ANOVASensorial)
summary(aromaMod2)

##              Df Sum Sq Mean Sq F value  Pr(>F)
## Frecuencia    1   26.3  26.291   7.566 0.0067 **

```

```

## Muestra          2      9.3   4.647   1.337 0.2657
## Frecuencia:Muestra  2      3.7   1.856   0.534 0.5873
## Residuals        147  510.8   3.475
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

anova(aromaMod2)

## Analysis of Variance Table
##
## Response: Aroma
##              Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
## Frecuencia     1  26.29  26.2915   7.5660 0.006696 **
## Muestra         2   9.29   4.6471   1.3373 0.265730
## Frecuencia:Muestra  2   3.71   1.8560   0.5341 0.587323
## Residuals     147 510.82   3.4750
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

#Dado que la interacción me dio que no es significativa porque  $p > 0.05$ , uso el ANOVA Tipo II para resumir el análisis.
Anova(aromaMod2, Type="II")

## Anova Table (Type II tests)
##
## Response: Aroma
##              Sum Sq  Df F value    Pr(>F)
## Frecuencia     26.29   1  7.5660 0.006696 **
## Muestra         9.29   2  1.3373 0.265730
## Frecuencia:Muestra  3.71   2  0.5341 0.587323
## Residuals     510.82 147
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Boxplot(Aroma ~ Muestra, data = ANOVASensorial, col=c("darkolivegreen3", "darkolivegreen4", "darkolivegreen"))

## Warning in Boxplot.default(mf[[response]], x, id = list(method = id.method, :
## NAs introducidos por coerción

## [1] "83" "101" "143"

mean(ANOVASensorial$Aroma)

## [1] 5.862745

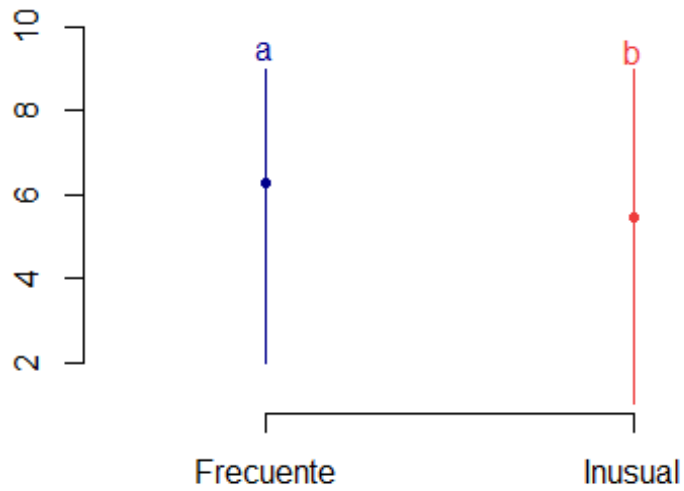
sd(ANOVASensorial$Aroma)

## [1] 1.902418

lsdaroma <- LSD.test(aromaMod1, "Frecuencia", p.adj="bonferroni")
plot(lsdaroma)

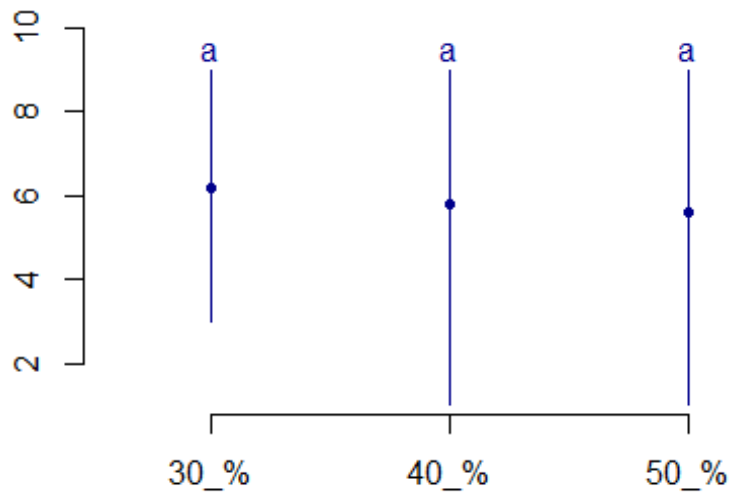
```

Groups and Range



```
lsdaroma2 <- LSD.test(aromaMod1, "Muestra", p.adj="bonferroni")  
plot(lsdaroma2)
```

Groups and Range



```

#Dulzor -> Escala TCG

leveneTest(ANOVASensorial$Dulzor, interaction(ANOVASensorial$Frecuencia, ANOVASensorial$Muestra), center=median)

## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
##      Df F value Pr(>F)
## group  5  0.5222 0.7592
##      147

#Que no sea significativa porque  $p > 0.05$  significa que hay homogeneidad en las varianzas

#alpha de 0.05

#Modelo 1: ANOVA con efectos principales (+): es decir, solo me da efectos de los factores independientes

dulceMod1 <- aov(Dulzor ~ Frecuencia + Muestra, data = ANOVASensorial)
summary(dulceMod1)

##              Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
## Frecuencia    1    3.1   3.053   0.854 0.3569
## Muestra        2   27.2  13.575   3.798 0.0246 *
## Residuals   149   532.5   3.574
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

anova(dulceMod1)

## Analysis of Variance Table
##
## Response: Dulzor
##              Df Sum Sq Mean Sq F value  Pr(>F)
## Frecuencia    1    3.05  3.0528  0.8542 0.35687
## Muestra        2   27.15 13.5752  3.7984 0.02461 *
## Residuals   149  532.52   3.5739
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

#anova o summary, los puedo usar indistintamente para el anova
#dado que  $p < 0.05$ , sí existe diferencia significativa cuando el panelista consume frecuentemente o no productos funcionales en la aceptación del aroma. No es significativa la muestra en cuanto a la aceptación del aroma.

#Modelo 2: ANOVA con efectos principales con interacción (*): se multiplican las variables independientes y con esto se identifica la interacción para saber si esta es significativa o no. Si lo es, entonces se usa el ANOVA Tipo III.
#Se analizan por separado los ANOVAS, para identificar si la interacción es significativa para usar el ANOVA Tipo III, si lo uso solo así, puedo cometer un error.

dulceMod2 <- aov(Dulzor ~ Frecuencia * Muestra, data = ANOVASensorial)
summary(dulceMod2)

##              Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
## Frecuencia    1    3.1   3.053   0.854 0.3570

```

```

## Muestra          2    27.2  13.575   3.796 0.0247 *
## Frecuencia:Muestra  2     6.8   3.405   0.952 0.3883
## Residuals        147  525.7   3.576
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

anova(dulceMod2)

## Analysis of Variance Table
##
## Response: Dulzor
##
##          Df Sum Sq Mean Sq F value  Pr(>F)
## Frecuencia      1   3.05  3.0528  0.8536 0.35704
## Muestra         2  27.15 13.5752  3.7959 0.02469 *
## Frecuencia:Muestra  2   6.81  3.4048  0.9521 0.38831
## Residuals      147 525.71  3.5762
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

#Dado que la interacción me dio que no es significativa porque  $p > 0.05$ , uso el ANOVA Tipo II para resumir el análisis.
Anova(dulceMod2, Type="II")

## Anova Table (Type II tests)
##
## Response: Dulzor
##
##          Sum Sq  Df F value  Pr(>F)
## Frecuencia      3.05   1  0.8536 0.35704
## Muestra        27.15   2  3.7959 0.02469 *
## Frecuencia:Muestra  6.81   2  0.9521 0.38831
## Residuals      525.71 147
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Boxplot(Dulzor ~ Muestra, data = ANOVASensorial, col=c("darkolivegreen3", "darkolivegreen4", "darkolivegreen"))

## Warning in Boxplot.default(mf[[response]], x, id = list(method = id.method, :
## NAs introducidos por coerción

mean(ANOVASensorial$Dulzor)

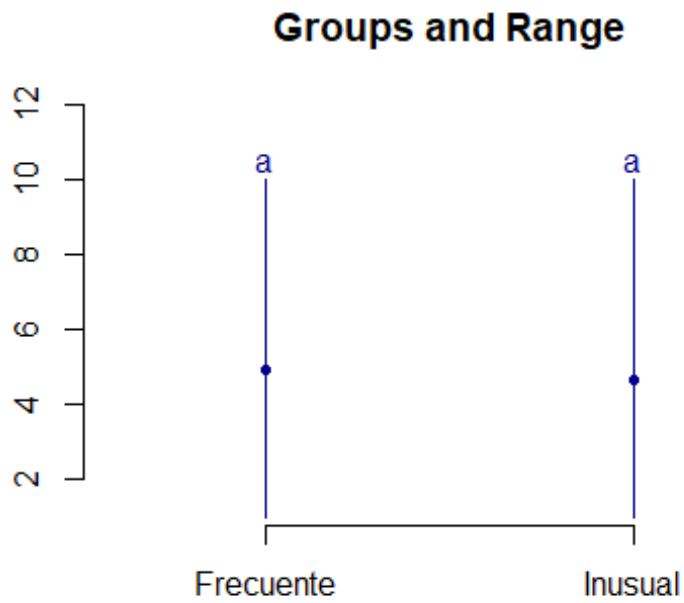
## [1] 4.797386

sd(ANOVASensorial$Dulzor)

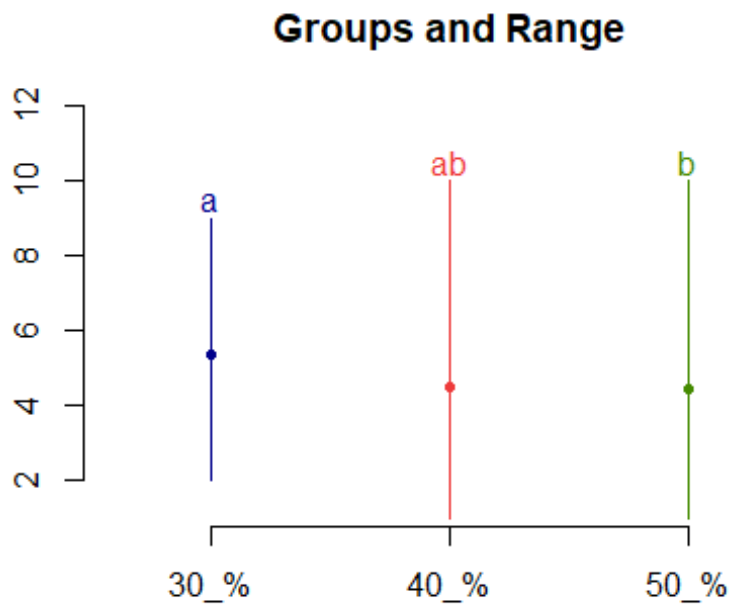
## [1] 1.924084

lsdsweet <- LSD.test(dulceMod1, "Frecuencia", p.adj="bonferroni")
plot(lsdsweet)

```



```
lidsweet2 <- LSD.test(dulceMod1, "Muestra", p.adj="bonferroni")
plot(lidsweet2)
```



```

#Color -> Escala TCG

leveneTest(ANOVASensorial$Color, interaction(ANOVASensorial$Frecuencia, ANOVASensorial$Muestra), center=median)

## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
##      Df F value Pr(>F)
## group  5  0.8995 0.4832
##      147

#Que no sea significativa porque  $p > 0.05$  significa que hay homogeneidad en las varianzas

#alpha de 0.05

#Modelo 1: ANOVA con efectos principales (+): es decir, solo me da efectos de los factores independientes

colorMod1 <- aov(Color ~ Frecuencia + Muestra, data = ANOVASensorial)
summary(colorMod1)

##              Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
## Frecuencia    1    2.2    2.165   0.463 0.4974
## Muestra        2   39.5   19.732   4.218 0.0165 *
## Residuals   149  697.1    4.678
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

anova(colorMod1)

## Analysis of Variance Table
##
## Response: Color
##              Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
## Frecuencia    1    2.16    2.1649   0.4628 0.49739
## Muestra        2   39.46   19.7320   4.2179 0.01653 *
## Residuals   149  697.05    4.6782
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

#anova o summary, los puedo usar indistintamente para el anova
#dado que  $p < 0.05$ , sí existe diferencia significativa cuando el panelista consume frecuentemente o no productos funcionales en la aceptación del aroma. No es significativa la muestra en cuanto a la aceptación del aroma.

#Modelo 2: ANOVA con efectos principales con interacción (*): se multiplican las variables independientes y con esto se identifica la interacción para saber si esta es significativa o no. Si lo es, entonces se usa el ANOVA Tipo III.
#Se analizan por separado los ANOVAS, para identificar si la interacción es significativa para usar el ANOVA Tipo III, si lo uso solo así, puedo cometer un error.

colorMod2 <- aov(Color ~ Frecuencia * Muestra, data = ANOVASensorial)
summary(colorMod2)

##              Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
## Frecuencia    1    2.2    2.165   0.467 0.4953

```

```

## Muestra          2   39.5  19.732   4.259 0.0159 *
## Frecuencia:Muestra  2   16.0   7.995   1.726 0.1817
## Residuals        147  681.1   4.633
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

anova(colorMod2)

## Analysis of Variance Table
##
## Response: Color
##
##           Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
## Frecuencia  1   2.16  2.1649  0.4673 0.49532
## Muestra     2  39.46 19.7320  4.2590 0.01592 *
## Frecuencia:Muestra  2  15.99  7.9946  1.7256 0.18166
## Residuals   147 681.06  4.6331
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

#Dado que la interacción me dio que no es significativa porque  $p > 0.05$ , uso el ANOVA Tipo II para resumir el análisis.
Anova(colorMod2, Type="II")

## Anova Table (Type II tests)
##
## Response: Color
##
##           Sum Sq  Df F value Pr(>F)
## Frecuencia     2.16   1  0.4673 0.49532
## Muestra       39.46   2  4.2590 0.01592 *
## Frecuencia:Muestra  15.99   2  1.7256 0.18166
## Residuals     681.06 147
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Boxplot(Color ~ Muestra, data = ANOVASensorial, col=c("darkolivegreen3", "darkolivegreen4", "darkolivegreen"))

## Warning in Boxplot.default(mf[[response]], x, id = list(method = id.method, :
## NAs introducidos por coerción

## [1] "133"

mean(ANOVASensorial$Color)

## [1] 5.601307

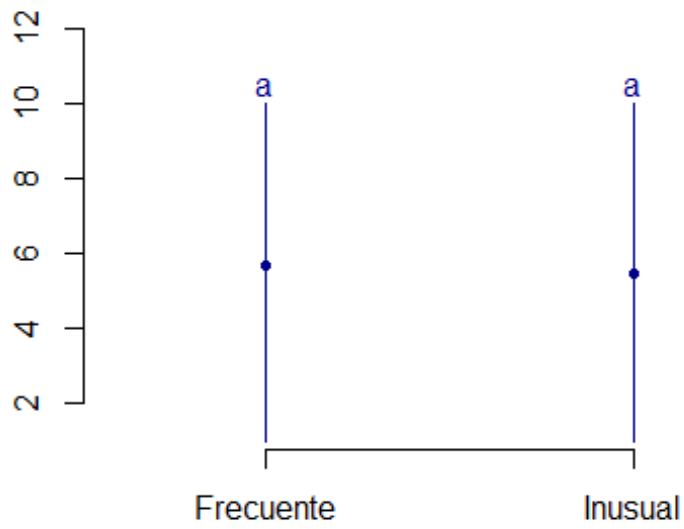
sd(ANOVASensorial$Color)

## [1] 2.204481

lsdcolor <- LSD.test(colorMod1, "Frecuencia", p.adj="bonferroni")
plot(lsdcolor)

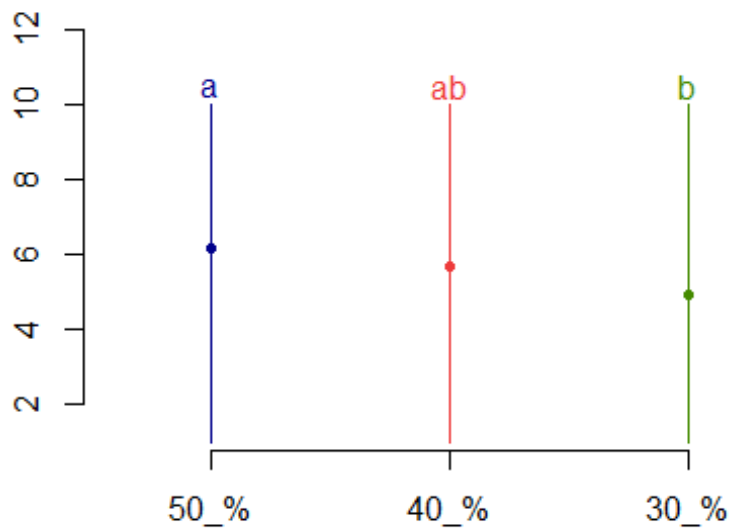
```

Groups and Range



```
lsdcolor2 <- LSD.test(colorMod1, "Muestra", p.adj="bonferroni")  
plot(lsdcolor2)
```

Groups and Range



```

#Acidez -> Escala TCG

leveneTest(ANOVASensorial$Acidez, interaction(ANOVASensorial$Frecuencia, ANOVASensorial$Muestra), center=median)

## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
##      Df F value Pr(>F)
## group  5   0.165  0.975
##      147

#Que no sea significativa porque  $p > 0.05$  significa que hay homogeneidad en las varianzas

#alpha de 0.05

#Modelo 1: ANOVA con efectos principales (+): es decir, solo me da efectos de los factores independientes

acidMod1 <- aov(Acidez ~ Frecuencia + Muestra, data = ANOVASensorial)
summary(acidMod1)

##              Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
## Frecuencia    1   10.4   10.44   3.262  0.0729 .
## Muestra       2   94.0   46.99  14.681 1.52e-06 ***
## Residuals   149  476.9    3.20
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

anova(acidMod1)

## Analysis of Variance Table
##
## Response: Acidez
##              Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
## Frecuencia    1   10.44  10.441   3.2622  0.07291 .
## Muestra       2   93.97  46.987  14.6806 1.515e-06 ***
## Residuals   149  476.89    3.201
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

#anova o summary, los puedo usar indistintamente para el anova
#dado que  $p < 0.05$ , sí existe diferencia significativa en la aceptación de acidez por el factor muestra.

#Modelo 2: ANOVA con efectos principales con interacción (*): se multiplican las variables independientes y con esto se identifica la interacción para saber si esta es significativa o no. Si lo es, entonces se usa el ANOVA Tipo III.
#Se analizan por separado los ANOVAS, para identificar si la interacción es significativa para usar el ANOVA Tipo III, si lo uso solo así, puedo cometer un error.

acidMod2 <- aov(Acidez ~ Frecuencia * Muestra, data = ANOVASensorial)
summary(acidMod2)

##              Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
## Frecuencia    1   10.4   10.44   3.226  0.0745 .
## Muestra       2   94.0   46.99  14.520 1.76e-06 ***

```

```

## Frecuencia:Muestra  2    1.2    0.59  0.183  0.8327
## Residuals          147  475.7    3.24
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

anova(acidMod2)

## Analysis of Variance Table
##
## Response: Acidez
##
##           Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
## Frecuencia  1  10.44   10.441   3.2264  0.07451 .
## Muestra     2  93.97   46.987  14.5196 1.76e-06 ***
## Frecuencia:Muestra  2    1.19    0.593  0.1833  0.83274
## Residuals    147 475.71    3.236
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

#Dado que la interacción me dio que no es significativa porque  $p > 0.05$ , uso el ANOVA Tipo II para resumir el análisis.
Anova(acidMod2, Type="II")

## Anova Table (Type II tests)
##
## Response: Acidez
##
##           Sum Sq  Df F value    Pr(>F)
## Frecuencia    10.44   1  3.2264  0.07451 .
## Muestra       93.97   2 14.5196 1.76e-06 ***
## Frecuencia:Muestra  1.19   2  0.1833  0.83274
## Residuals    475.71 147
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Boxplot(Acidez ~ Muestra, data = ANOVASensorial, col=c("darkolivegreen3", "darkolivegreen4", "darkolivegreen"))

## Warning in Boxplot.default(mf[[response]], x, id = list(method = id.method, :
## NAs introducidos por coerción

## [1] "117" "126"

mean(ANOVASensorial$Acidez)

## [1] 4.679739

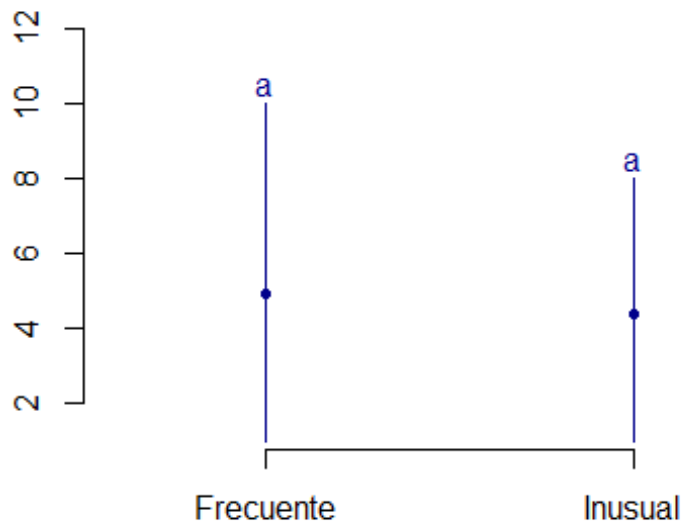
sd(ANOVASensorial$Acidez)

## [1] 1.955605

lsdaci <- LSD.test(acidMod2, "Frecuencia", p.adj="bonferroni")
plot(lsdaci)

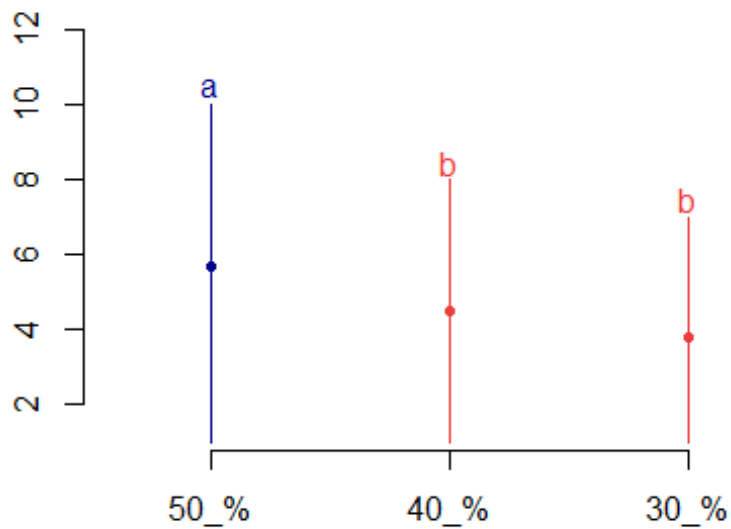
```

Groups and Range



```
lsdaci2 <- LSD.test(acidMod2, "Muestra", p.adj="bonferroni")  
plot(lsdaci2)
```

Groups and Range



```

#Consistencia -> Escala TCG

leveneTest(ANOVASensorial$Consistencia, interaction(ANOVASensorial$Frecuencia, A
NOVASensorial$Muestra), center=median)

## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)
##      Df F value Pr(>F)
## group  5   2.267 0.0508 .
##      147
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

#Que no sea significativa porque  $p > 0.05$  significa que hay homogeneidad en las va
rianzas

#alpha de 0.05

#Modelo 1: ANOVA con efectos principales (+): es decir, solo me da efectos de lo
s factores independientes

consMod1 <- aov(Consistencia ~ Frecuencia + Muestra, data = ANOVASensorial)
summary(consMod1)

##              Df Sum Sq Mean Sq F value  Pr(>F)
## Frecuencia    1    3.7   3.742    1.13 0.28942
## Muestra       2   63.0  31.477    9.51 0.00013 ***
## Residuals   149  493.2   3.310
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

anova(consMod1)

## Analysis of Variance Table
##
## Response: Consistencia
##              Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
## Frecuencia    1    3.74  3.7416  1.1304 0.2894177
## Muestra       2   62.95 31.4771  9.5095 0.0001298 ***
## Residuals   149  493.20   3.3101
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

#anova o summary, Los puedo usar indistintamente para el anova
#dado que  $p < 0.05$ , sí existe diferencia significativa en la aceptación de consist
encia por el factor muestra.

#Modelo 2: ANOVA con efectos principales con interacción (*): se multiplican las
variables independientes y con esto se identifica la interacción para saber si e
sta es significativa o no. Si lo es, entonces se usa el ANOVA Tipo III.
#Se analizan por separado los ANOVAS, para identificar si la interacción es sign
ificativa para usar el ANOVA Tipo III, si lo uso solo así, puedo cometer un erro
r.
consMod2 <- aov(Consistencia ~ Frecuencia * Muestra, data = ANOVASensorial)
summary(consMod2)

```

```

##           Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
## Frecuencia      1    3.7   3.742    1.120 0.291552
## Muestra         2   63.0  31.477    9.426 0.000141 ***
## Frecuencia:Muestra  2    2.3   1.163    0.348 0.706509
## Residuals     147  490.9   3.339
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

anova(consMod2)

## Analysis of Variance Table
##
## Response: Consistencia
##           Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
## Frecuencia      1    3.74   3.7416    1.1205 0.2915524
## Muestra         2   62.95  31.4771    9.4263 0.0001407 ***
## Frecuencia:Muestra  2    2.33   1.1629    0.3482 0.7065090
## Residuals     147  490.87   3.3393
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

#Dado que La interacción me dio que no es significativa porque  $p > 0.05$ , uso el ANOVA Tipo II para resumir el análisis.
Anova(consMod1, Type="II")

## Anova Table (Type II tests)
##
## Response: Consistencia
##           Sum Sq Df F value    Pr(>F)
## Frecuencia    3.74   1  1.1304 0.2894177
## Muestra       62.95   2  9.5095 0.0001298 ***
## Residuals   493.20 149
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Boxplot(Consistencia ~ Muestra, data = ANOVASensorial, col=c("darkolivegreen3",
"darkolivegreen4", "darkolivegreen"))

## Warning in Boxplot.default(mf[[response]], x, id = list(method = id.method, :
## NAs introducidos por coerción

mean(ANOVASensorial$Consistencia)

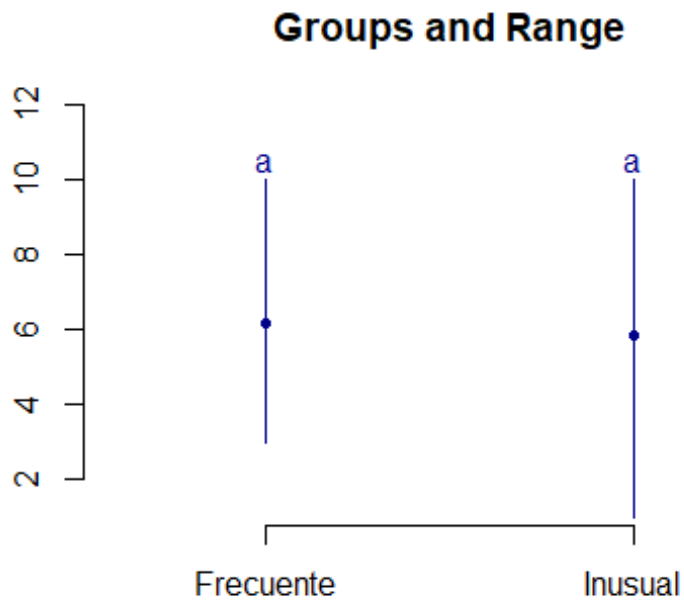
## [1] 6.026144

sd(ANOVASensorial$Consistencia)

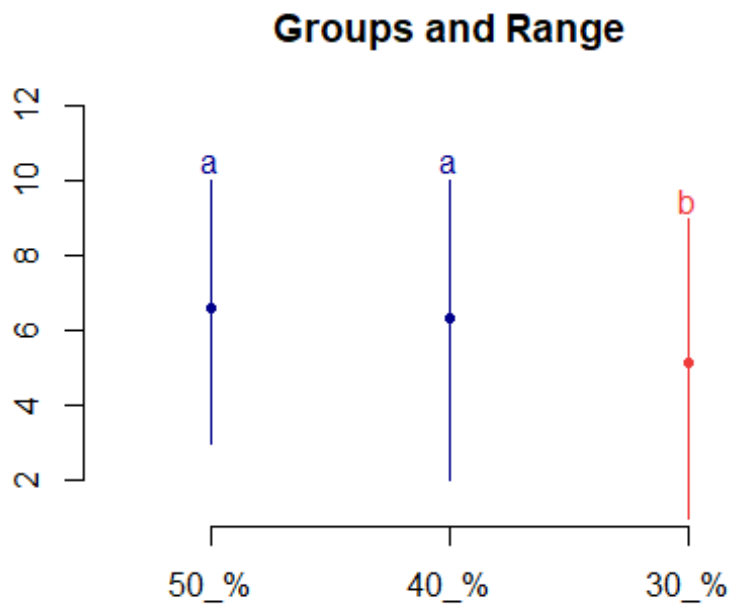
## [1] 1.919251

lsdcons <- LSD.test(consMod1, "Frecuencia", p.adj="bonferroni")
plot(lsdcons)

```



```
lsdcons2 <- LSD.test(consMod1, "Muestra", p.adj="bonferroni")
plot(lsdcons2)
```



```

#Gráfico de Pie con Las preferencias (%)
slices <- c(30, 13, 8)

lbls <- c("Formulación al 30% - ", "Formulación al 40% - ", "Formulación al 50%
- ")
pct <- round(slices/sum(slices)*100)
lbls <- paste(lbls, pct)

# add percents to Labels
lbls <- paste(lbls,"%",sep="") # ad % to Labels
pie(slices,labels = lbls, col=c("darkolivegreen3","darkolivegreen4","darkolivegr
een"),
    main="")

```

Anexo 14. Código de R para el ANOVA de la aceptación general y atributos de las bebidas para consumidores frecuentes de productos funcionales

```

library(readxl)
SensorialLSDFrecuente <- read_excel("C:/Users/DELL/OneDrive - UVG/Tesis/Sensoria
lLSDFrecuente.xlsx")
View(SensorialLSDFrecuente)

#ANOVAs

acceptge = aov(Aceptacion ~ Muestra, data=SensorialLSDFrecuente)
summary(acceptge)

##           Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
## Muestra      2   13.0   6.500   1.961  0.148
## Residuals   75  248.5   3.314

aceptarom = aov(Aroma ~ Muestra, data=SensorialLSDFrecuente)
summary(aceptarom)

##           Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
## Muestra      2    2.85   1.423   0.444  0.643
## Residuals   75 240.50   3.207

tcgdulz = aov(Dulzor ~ Muestra, data=SensorialLSDFrecuente)
summary(tcgdulz)

##           Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
## Muestra      2    6.33   3.167   0.956  0.389
## Residuals   75 248.35   3.311

tcgcolo = aov(Color ~ Muestra, data=SensorialLSDFrecuente)
summary(tcgcolo)

##           Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
## Muestra      2   52.3  26.167   5.747 0.00476 **
## Residuals   75  341.5   4.553
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

tcgacid = aov(Acidez ~ Muestra, data=SensorialLSDFrecuente)
summary(tcgacid)

```

```

##           Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
## Muestra    2  56.33  28.167   9.171 0.000273 ***
## Residuals 75 230.35   3.071
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

tcgconsis = aov(Consistencia ~ Muestra, data=SensorialLSDFrecuente)
summary(tcgconsis)

##           Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
## Muestra    2  21.33  10.667   3.537 0.034 *
## Residuals 75 226.15   3.015
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

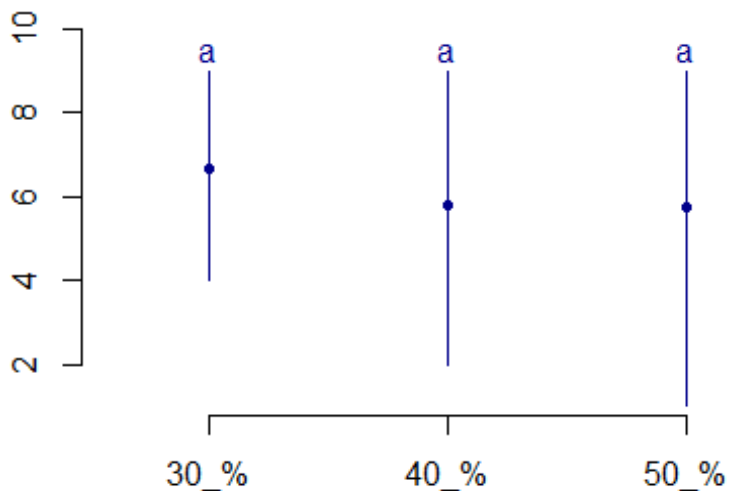
#LSD

library(agricolae)

lsdacceptge <- LSD.test(acceptge, "Muestra", p.adj="bonferroni")
plot(lsdacceptge)

```

Groups and Range

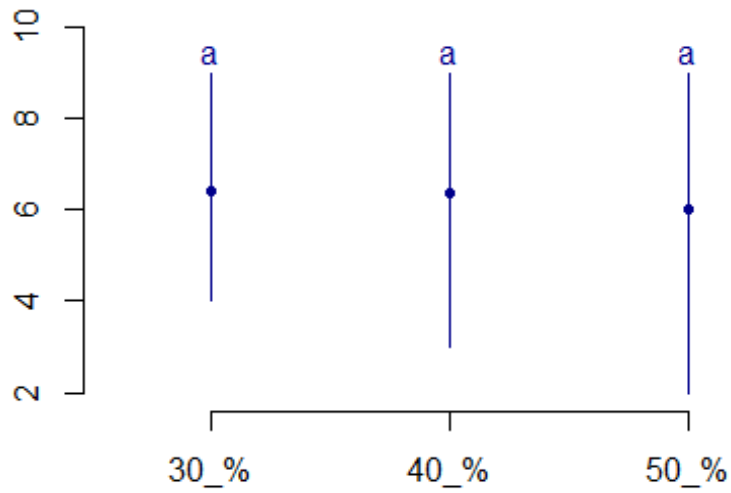


```

lsdacceptaro <- LSD.test(acceptarom, "Muestra", p.adj="bonferroni")
plot(lsdacceptaro)

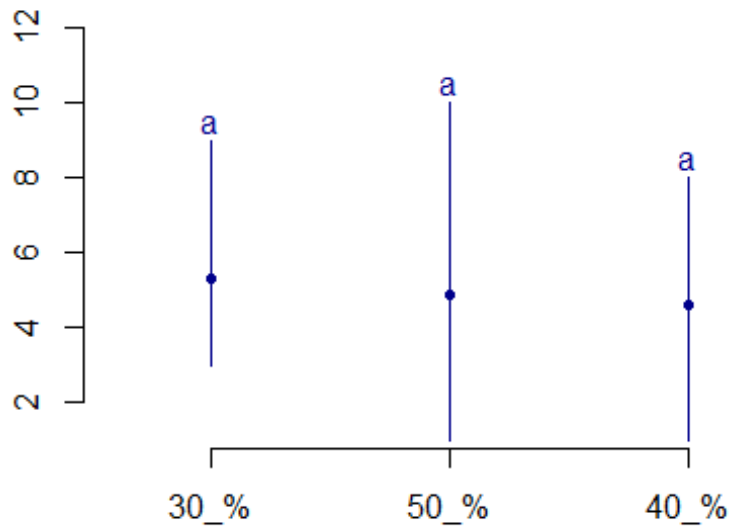
```

Groups and Range

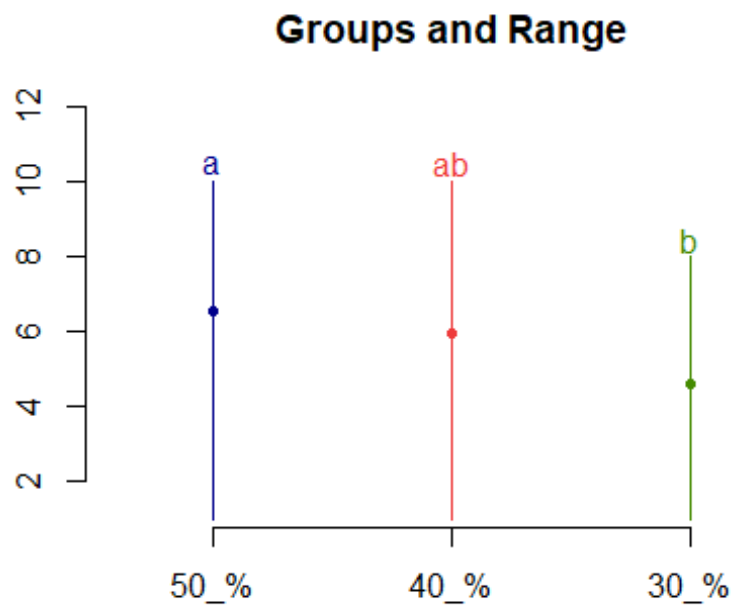


```
lsddulztcg <- LSD.test(tcgdulz, "Muestra", p.adj="bonferroni")  
plot(lsddulztcg)
```

Groups and Range

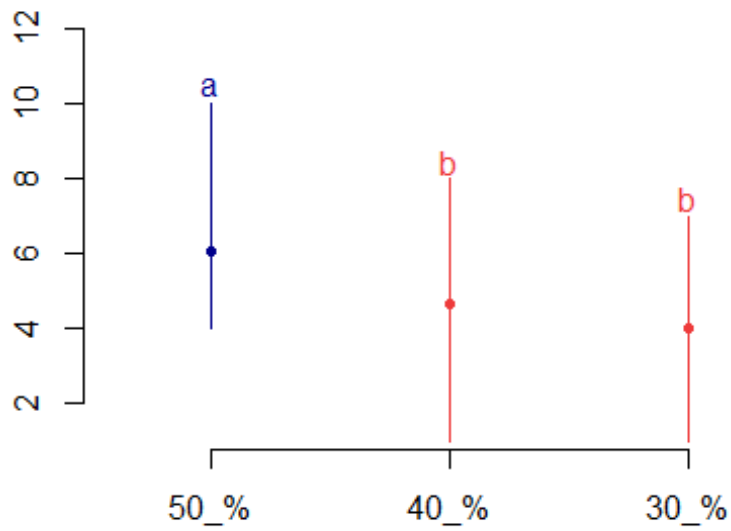


```
lsdcolotcg <- LSD.test(tcgcolo, "Muestra", p.adj="bonferroni")  
plot(lsdcolotcg)
```



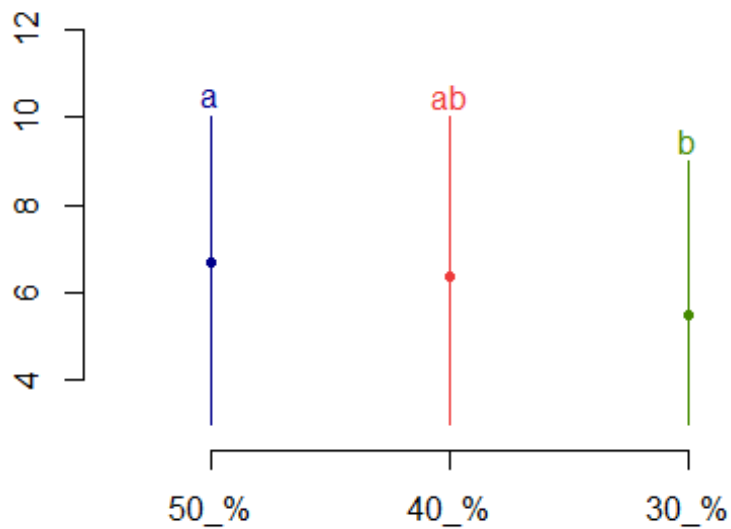
```
lsdacideztcg <- LSD.test(tcgacid, "Muestra", p.adj="bonferroni")  
plot(lsdacideztcg)
```

Groups and Range



```
lsdconstcg <- LSD.test(tcgconsis, "Muestra", p.adj="bonferroni")  
plot(lsdconstcg)
```

Groups and Range



Anexo 15. Código de R para el ANOVA de la aceptación general y atributos de las bebidas para consumidores inusuales de productos funcionales

```
library(readxl)
SensorialLSDInusuales <- read_excel("C:/Users/DELL/OneDrive - UVG/Tesis/SensorialLSDInusuales.xlsx")
View(SensorialLSDInusuales)

#ANOVAs

acceptgen = aov(Aceptacion ~ Muestra, data=SensorialLSDInusuales)
summary(acceptgen)

##           Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
## Muestra      2  17.63   8.813   2.731 0.0719 .
## Residuals   72 232.32   3.227
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

acceptaroma = aov(Aroma ~ Muestra, data=SensorialLSDInusuales)
summary(acceptaroma)

##           Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
## Muestra      2  10.16   5.080   1.353 0.265
## Residuals   72 270.32   3.754

tcgdulzor = aov(Dulzor ~ Muestra, data=SensorialLSDInusuales)
summary(tcgdulzor)

##           Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
## Muestra      2  27.63  13.813   3.586 0.0328 *
## Residuals   72 277.36   3.852
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

tcgcolor = aov(Color ~ Muestra, data=SensorialLSDInusuales)
summary(tcgcolor)

##           Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
## Muestra      2    3.1   1.560   0.331 0.719
## Residuals   72 339.6   4.717

tcgacidez = aov(Acidez ~ Muestra, data=SensorialLSDInusuales)
summary(tcgacidez)

##           Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
## Muestra      2  38.83  19.413   5.697 0.00505 **
## Residuals   72 245.36   3.408
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

tcgcons = aov(Consistencia ~ Muestra, data=SensorialLSDInusuales)
summary(tcgcons)

##           Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
## Muestra      2  43.95  21.973   5.976 0.00397 **
```

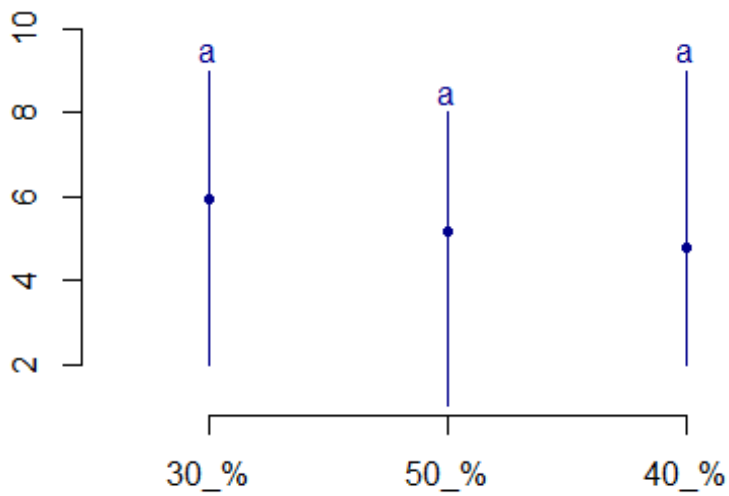
```
## Residuals 72 264.72 3.677
## ---
## Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

#LSD

library(agricolae)

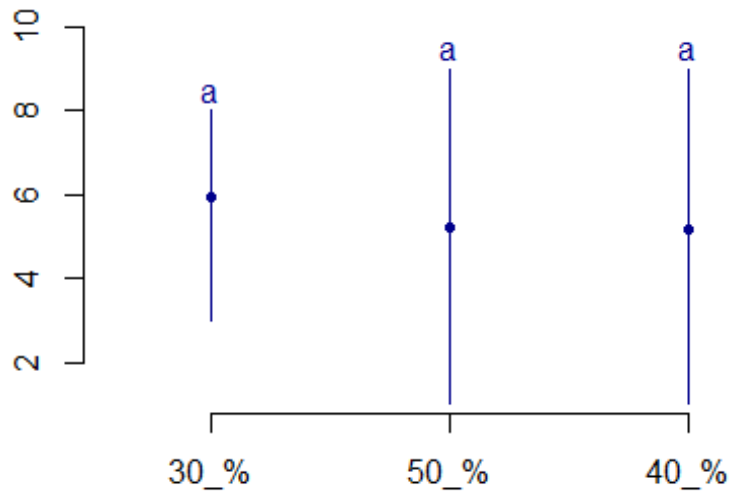
lsdacceptgen <- LSD.test(acceptgen, "Muestra", p.adj="bonferroni")
plot(lsdacceptgen)
```

Groups and Range



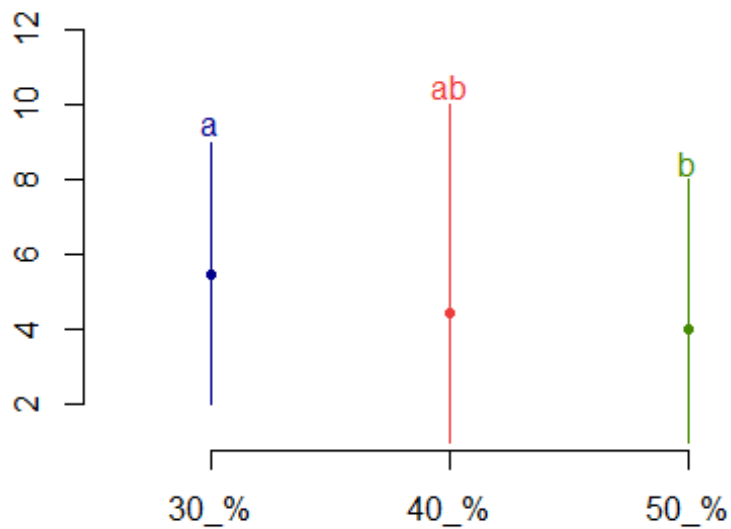
```
lsdacceptarom <- LSD.test(acceptaroma, "Muestra", p.adj="bonferroni")
plot(lsdacceptarom)
```

Groups and Range

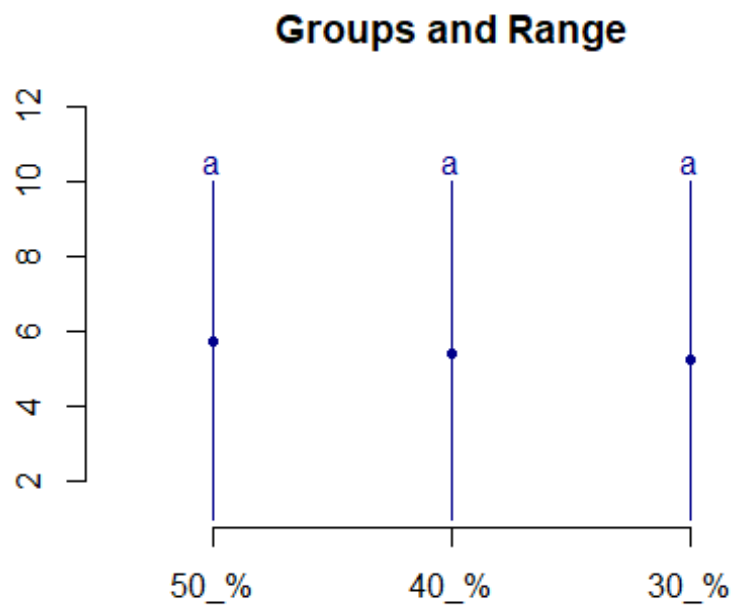


```
lsddulzortcg <- LSD.test(tcgdulzor,"Muestra", p.adj="bonferroni")  
plot(lsddulzortcg)
```

Groups and Range

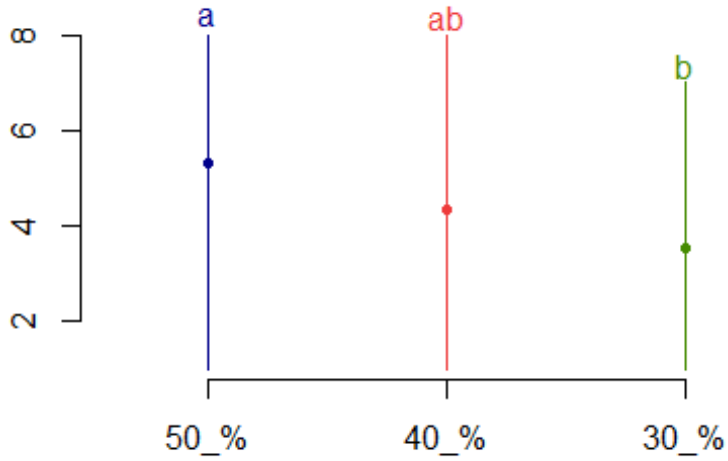


```
lsdcolortcg <- LSD.test(tcgcolor, "Muestra", p.adj="bonferroni")  
plot(lsdcolortcg)
```



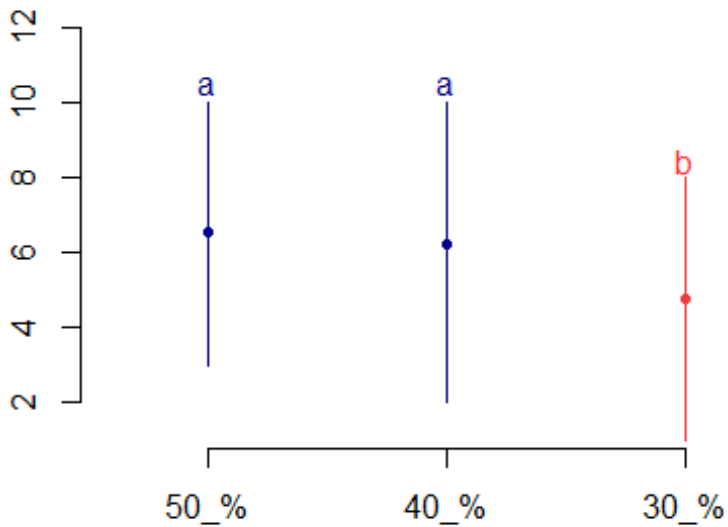
```
lsdacideztcg <- LSD.test(tcgacidez, "Muestra", p.adj="bonferroni")  
plot(lsdacideztcg)
```

Groups and Range



```
lsdconstcg <- LSD.test(tcgcons, "Muestra", p.adj="bonferroni")  
plot(lsdconstcg)
```

Groups and Range



C. Determinación de la composición nutricional y análisis fisicoquímicos

Anexo 16. Resultados de contenido de humedad para muestras liofilizadas de la bebida probiótica

Muestra	Peso (± 0.0001 g)	Muestra seca (± 0.0001 g)	Humedad (%)
1	6.648	5.9339	10.74
2	6.219	5.5722	10.40

Anexo 17. Resultados de contenido de cenizas para muestras de la bebida probiótica

Muestra	Peso (± 0.0001 g)	Residuo (± 0.0001 g)	Cenizas (%)
1	1.5551	0.0521	3.35
2	1.5653	0.0527	3.37

Anexo 18. Resultados de contenido de grasa para muestras de la bebida probiótica

Muestra	Peso (± 0.0001 g)	Residuo (± 0.0001 g)	Grasa (%)
1	6.2031	0.0272	0.44
2	6.2518	0.0303	0.48

Anexo 19. Resultados de contenido de proteína para muestras de la bebida probiótica

Muestra	Peso (± 0.0001 g)	HCl 0.1 M (± 0.05 mL)	Nitrógeno (%)	Proteína (%)
1	0.2650	4.3	2.27	14.20
2	0.2654	4.4	2.32	14.51

Anexo 20. Resultados de residuos sólidos para determinación de fibra dietética

Muestra	Peso (± 0.0001 g)	Residuo (± 0.0001 g)
Blanco		0.0146
M1	1.0219	0.1995
M2	1.0264	0.1953
M3	1.0522	0.2485
M4	1.0217	0.2062
M5	1.0309	0.2233


Anexo 21. Resultados de proteína para los residuos sólidos en determinación de fibra dietética

Muestra	Peso (±0.0001 g)	HCl 0.1 M (±0.05 mL)	Nitrógeno (%)	Proteína (%)	Proteína (g)
Blanco	0.2535	1.0	0.55	3.45	0.0088
M1	0.2510	1.5	0.84	5.23	0.0131
M2	0.2516	2.6	1.45	9.04	0.0228
M3	0.2512	2.4	1.34	8.36	0.0210
Promedio					0.0190

Anexo 22. Resultados de ceniza para los residuos sólidos en determinación de fibra dietética

Muestra	Peso (±0.0001 g)	Residuo (±0.0001 g)	Cenizas (%)	Ceniza (g)
Blanco	0.2350	0.2313	98.43%	0.2313
M1	0.4482	0.2156	48.10%	0.2156
M2	0.3410	0.1718	50.38%	0.1718
Promedio				0.1937


Anexo 23. Cálculo de fibra dietética a través de la hoja de datos del kit Megazyme



Mega-Calc™ Data Calculator

Total, Soluble & Insoluble Dietary Fiber (K-TDFR) - Determination

Setting New Standards in Test Technology



Sample details Bebida probiótica a base de harina de arveja c

[Instructions](#)
[Contact Us](#)

	Sample identifier	Sample weights		Residue weights		Protein	Ash	Dietary Fibre	
		m ₁ (g)	m ₂ (g)	R ₁ (sample) or BR ₁ (blank) (g)	R ₂ (sample) or BR ₂ (blank) (g)				
1	M1	Sample	1.0219	1.0217	0.1995	0.2062	0.0190	0.1937	21.1039
	Blank				0.0146	0.0146	0.0088	0.2313	
2	M2	Sample	1.0264	1.0309	0.1953	0.2233	0.0190	0.1937	21.5904
	Blank				0.0146	0.0146	0.0088	0.2313	

Anexo 24. Cálculo para la determinación de carbohidratos totales

$$\text{Carbohidratos totales (\%)} = 100\% - 10.57\% - 3.36\% - 0.46\% - 14.25\% = 71.26\%$$

Anexo 25. Promedio y desviación estándar de los resultados del análisis proximal a la bebida probiótica en base húmeda

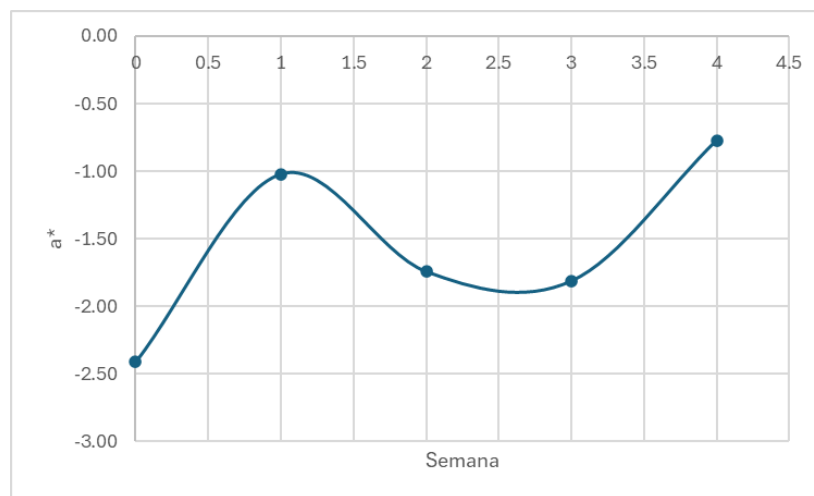
Componente	Contenido porcentual (%)
Humedad (lío­filizado)	10.57 ± 0.24
Cenizas	3.36 ± 0.01
Grasa	0.46 ± 0.03
Proteína	14.35 ± 0.22
Carbohidratos totales	71.26 ± 1.64
Fibra dietética	21.35 ± 1.97

D. Determinación de la vida de anaquel y crecimiento de los microorganismos

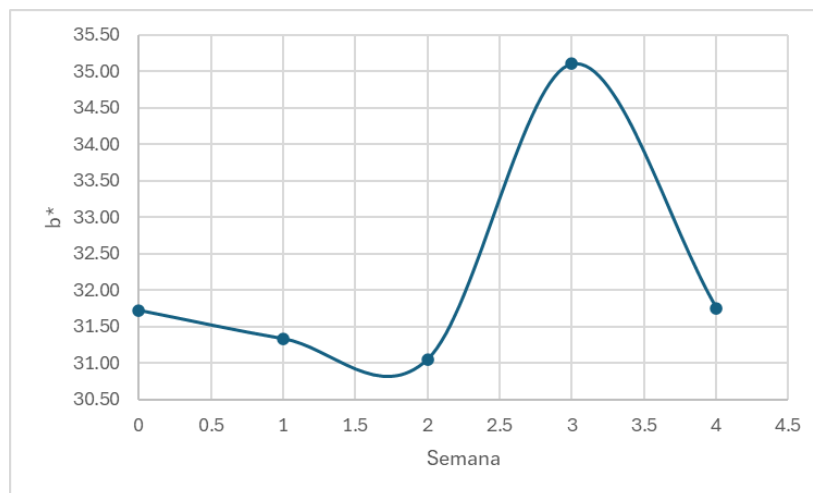
Anexo 26. Resultados de cambios en pH de la bebida probiótica almacenada en refrigeración

Semana	pH (±0.02)		Promedio	Desviación estándar
0	3.25	3.30	3.28	0.04
1	3.21	3.25	3.23	0.03
2	3.23	3.21	3.22	0.01
3	3.28	3.13	3.21	0.11
4	3.21	3.19	3.20	0.01

Anexo 27. Variación de las coordenadas rojo/verde (a*) de la bebida probiótica almacenada en refrigeración



Anexo 28. Variación de las coordenadas amarillo/azul (b^*) de la bebida probiótica almacenada en refrigeración



Anexo 29. Determinación del color en muestra desviada por cambios en el secado de la harina de arveja china

CIE LAB			Color
L*	a*	b*	
38.58	2.58	25.60	

Anexo 30. Resultados en el recuento de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 en la bebida probiótica almacenada en refrigeración

Semana	Probióticos (UFC/g)				Promedio	Log(N)
0	2.00E+08	1.00E+08	-	-	1.50E+08	8.18
1	4.00E+08	6.00E+08	5.00E+08	4.00E+08	4.75E+08	8.68
2	1.68E+09	1.84E+09	2.00E+08	-	1.24E+09	9.09
3	1.00E+08	3.00E+08	1.00E+08	2.00E+08	1.75E+08	8.24
4	-	-	2.00E+08	1.00E+08	1.50E+08	8.18