



# **ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

## **FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS**

### **CARRERA INGENIERIA EN INDUSTRIAS PECUARIAS**

#### **“COMPORTAMIENTO SIMBIÓTICO DEL KÉFIR DE LECHE UTILIZANDO COMO SUSTRATO EL GERMEN DE SOYA”**

**Trabajo de Titulación**

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

**INGENIERO EN INDUSTRIAS PECUARIAS**

**AUTOR:**

**ANDREA MISHHELL CHÁVEZ DÍAZ**

Riobamba – Ecuador

2023



# **ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

## **FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS**

### **CARRERA INGENIERIA EN INDUSTRIAS PECUARIAS**

#### **“COMPORTAMIENTO SIMBIÓTICO DEL KÉFIR DE LECHE UTILIZANDO COMO SUSTRATO EL GERMEN DE SOYA”**

##### **Trabajo de Titulación**

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

##### **INGENIERO EN INDUSTRIAS PECUARIAS**

**AUTORA:** ANDREA MISHHELL CHÁVEZ DÍAZ

**DIRECTOR:** ING. IVÁN PATRICIO SALGADO TELLO M.Sc

Riobamba – Ecuador

2023

© 2023, Andrea Mishell Chávez Díaz

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, Andrea Mishell Chávez Díaz, declaro que el presente Trabajo de Titulación es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Titulación; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 15 de febrero del 2023



**Andrea Mishell Chávez Díaz**

**172797025-1**

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS**  
**CARRERA INGENIERIA EN INDUSTRIAS PECUARIAS**

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El Trabajo de Titulación: Tipo: Trabajo Experimental, **COMPORTAMIENTO SIMBIÓTICO DEL KÉFIR DE LECHE UTILIZANDO COMO SUSTRATO EL GERMEN DE SOYA**, realizado por la señora: **ANDREA MISHHELL CHÁVEZ DÍAZ**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	<b>FIRMA</b>	<b>FECHA</b>
Ing. Paola Fernanda Arguello Hernández M.Sc <b>PRESIDENTE DEL TRIBUNAL</b>	 _____	2023-02-15
Ing. Iván Patricio Salgado Tello M.Sc <b>DIRECTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN</b>	 _____	2023-02-15
Ing. Cesar Iván Flores Mancheno PhD. <b>MIEMBRO DEL TRIBUNAL</b>	 _____	2023-02-15

## **DEDICATORIA**

A mi Dios por cuidarme y darme fortaleza para cumplir con uno de mis objetivos. Es un placer dedicar el presente trabajo de titulación, a mi querido esposo Darwin Valdivieso que fue y es el pilar fundamental de mi vida, siempre me ayuda y me guía en todas mis decisiones, también, quiero mencionar a mis suegros María L. y Martín V. por creer en mí y ayudarme en todo el proceso de mi carrera, a pesar de las dificultades que tuve, nunca soltaron mi mano. Es grato mencionar a mi hermana Lady V. por siempre animarme e impulsarme a seguir mis sueños; también, a mis queridos abuelitos Juan y Carmen que, a pesar de su pronta partida, me ayudaron a luchar por mis metas (desearía que me vieran culminar este proyecto).

Andrea

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a Dios por guiarme y darme sabiduría para cumplir con este proyecto de mi vida; a todas las personas que hicieron posible que llegara tan lejos, tanto en mi vida profesional como en mi diario vivir, extendiendo un sincero y grato agradecimiento, en especial a mi esposo y a mi familia más cercana.

A los docentes que supieron guiarme y brindarme herramientas para mi formación a lo largo de la carrera, especialmente a mi tutor Ing. Iván Salgado y asesor Ing. Iván Flores, así como a los Técnicos Docentes de cada área de laboratorio, por extenderme sus conocimientos.

Andrea

## TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xiii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiv
RESUMEN.....	xvi
ABSTRACT.....	xvii
INTRODUCCIÓN.....	1

## CAPÍTULO I

<b>1</b>	<b>MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>2</b>
<b>1.1</b>	<b>Soya.....</b>	<b>2</b>
<b>1.1.1</b>	<b><i>Germen de soya.....</i></b>	<b>3</b>
<b>1.1.2</b>	<b><i>Germinación de la soya.....</i></b>	<b>3</b>
<b>1.1.3</b>	<b><i>Efecto de la germinación sobre la soya.....</i></b>	<b>4</b>
<b>1.2</b>	<b>Sustratos utilizados para el kéfir de leche.....</b>	<b>5</b>
<b>1.2.1</b>	<b><i>Extracto soluble de soya germinada.....</i></b>	<b>5</b>
<b>1.2.1.1</b>	<b><i>Características bromatológicas y fisicoquímicas de extractos solubles germinados... </i></b>	<b>6</b>
<b>1.2.2</b>	<b><i>Productos fermentados con Extracto Soluble de Soya.....</i></b>	<b>7</b>
<b>1.3</b>	<b>Granos de kéfir.....</b>	<b>8</b>
<b>1.3.1</b>	<b><i>Microbiota de los gránulos de kéfir de leche.....</i></b>	<b>8</b>
<b>1.3.1.1</b>	<b><i>Población de Bacterias Ácido Lácticas, Acéticas y levaduras del inoculo inicial (granos de kéfir y sustratos no lácteos).....</i></b>	<b>9</b>
<b>1.3.2</b>	<b><i>Procesos fermentativos del gránulo de kéfir.....</i></b>	<b>10</b>
<b>1.3.2.1</b>	<b><i>Fermentación Láctica.....</i></b>	<b>11</b>
<b>1.3.2.2</b>	<b><i>Fermentación Acética.....</i></b>	<b>12</b>
<b>1.3.2.3</b>	<b><i>Fermentación alcohólica.....</i></b>	<b>12</b>
<b>1.3.2.4</b>	<b><i>Fermentación de los granos de kéfir de leche con sustratos no lácteos.....</i></b>	<b>13</b>
<b>1.3.3</b>	<b><i>Simbiosis del gránulo de kéfir de leche.....</i></b>	<b>14</b>
<b>1.3.3.1</b>	<b><i>Actividad simbiótica de bacterias ácido lácticas, bacterias acéticas y levaduras usando extracto soluble inoculado con los gránulos de kéfir de leche.....</i></b>	<b>15</b>

## CAPÍTULO II

<b>2</b>	<b>MARCO METODOLÓGICO .....</b>	<b>17</b>
<b>2.1</b>	<b>Localización y duración del experimento .....</b>	<b>17</b>
<b>2.2</b>	<b>Unidades experimentales.....</b>	<b>17</b>
<b>2.3</b>	<b>Materiales, equipos e insumos .....</b>	<b>17</b>
<b>2.3.1</b>	<i>Materiales.....</i>	<b>17</b>
<b>2.3.2</b>	<i>Equipos.....</i>	<b>18</b>
<b>2.3.3</b>	<i>Insumos .....</i>	<b>18</b>
<b>2.4</b>	<b>Tratamientos y diseño experimental.....</b>	<b>18</b>
<b>2.5</b>	<b>Mediciones experimentales .....</b>	<b>18</b>
<b>2.5.1</b>	<i>Análisis bromatológico del extracto soluble del germinado de soya (Glycine max).</i>	<b>19</b>
<b>2.5.2</b>	<i>Análisis fisicoquímico del extracto soluble del germinado de soya (Glycine max)..</i>	<b>19</b>
<b>2.5.3</b>	<i>Población de Bacterias Ácido Lácticas, Acéticas y levaduras a partir del inoculo inicial en diferentes tiempos (0, 24 ,48 ,72 y 96 horas).</i> .....	<b>19</b>
<b>2.5.4</b>	<i>Actividad simbiótica de Bacterias Ácido Lácticas, Acéticas y levaduras.....</i>	<b>19</b>
<b>2.6</b>	<b>Análisis estadísticos y pruebas de significancia .....</b>	<b>19</b>
<b>2.7</b>	<b>Procedimiento experimental.....</b>	<b>20</b>
<b>2.7.1</b>	<i>Germinado de los granos de soya.....</i>	<b>20</b>
<b>2.7.1.1</b>	<i>Recepción e inspección de la materia prima .....</i>	<b>21</b>
<b>2.7.1.2</b>	<i>Lavado de la materia prima.....</i>	<b>21</b>
<b>2.7.1.3</b>	<i>Remojo de la materia prima.....</i>	<b>21</b>
<b>2.7.1.4</b>	<i>Germinado de soya .....</i>	<b>21</b>
<b>2.7.1.5</b>	<i>Adecuación del grano de soya .....</i>	<b>21</b>
<b>2.7.2</b>	<i>Elaboración del extracto soluble de soya germinada (bebida de soya germinada)..</i>	<b>22</b>
<b>2.7.2.1</b>	<i>Selección de la materia prima.....</i>	<b>23</b>
<b>2.7.2.2</b>	<i>Pelado de la materia prima.....</i>	<b>23</b>
<b>2.7.2.3</b>	<i>Escaldado.....</i>	<b>23</b>
<b>2.7.2.4</b>	<i>Licuado... ..</i>	<b>23</b>
<b>2.7.2.5</b>	<i>Filtración .....</i>	<b>23</b>
<b>2.7.2.6</b>	<i>Pasteurización.....</i>	<b>23</b>
<b>2.7.2.7</b>	<i>Envasado .....</i>	<b>23</b>
<b>2.7.2.8</b>	<i>Almacenamiento.....</i>	<b>24</b>

<b>2.7.3</b>	<b>Elaboración del extracto soluble germinado de soya con kéfir (bebida de soya kéfirada)</b> .....	<b>24</b>
2.7.3.1	<i>Adecuación del extracto soluble del germinado de soya.</i> .....	25
2.7.3.2	<i>Inoculación del grano de kéfir con el extracto soluble de soya germinada.</i> .....	25
2.7.3.3	<i>Fermentación</i> .....	25
2.7.3.4	<i>Filtración</i> .....	25
2.7.3.5	<i>Reutilización del grano de kéfir</i> .....	25
2.7.3.6	<i>Almacenamiento</i> .....	26
<b>2.8</b>	<b>Metodología de evaluación</b> .....	<b>26</b>
<b>2.8.1</b>	<b>Análisis bromatológico</b> .....	<b>26</b>
2.8.1.1	<i>Determinación de Azúcares</i> .....	26
2.8.1.2	<i>Determinación de Grasa</i> .....	28
2.8.1.3	<i>Determinación de Proteínas</i> .....	29
<b>2.8.2</b>	<b>Análisis Físico-químicos</b> .....	<b>31</b>
2.8.2.1	<i>Determinación de PH</i> .....	31
2.8.2.2	<i>Determinación de Acidez</i> .....	32
<b>2.8.3</b>	<b>Recuento Microbiológico</b> .....	<b>32</b>
2.8.3.1	<i>Determinación de Bacterias Ácido-Lácticas</i> .....	33
2.8.3.2	<i>Determinación de Bacterias Acéticas</i> .....	33
2.8.3.3	<i>Determinación de Levaduras</i> .....	34
<b>2.8.4</b>	<b>Actividad simbiótica</b> .....	<b>34</b>

### CAPÍTULO III

<b>3</b>	<b>MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS</b> .....	<b>35</b>
<b>3.1</b>	<b>Análisis de las características bromatológicas</b> .....	<b>35</b>
3.1.1	<i>Contenido de Azúcares del Extracto Soluble de Soya Germinado.</i> .....	35
3.1.2	<i>Contenido de Grasa del extracto soluble de soya germinada</i> .....	36
3.1.3	<i>Contenido de proteína del extracto soluble de soya germinado</i> .....	37
<b>3.2</b>	<b>Análisis de las características fisicoquímicas</b> .....	<b>38</b>
3.2.1	<i>Contenido de pH del extracto soluble de soya germinado</i> .....	38
3.2.2	<i>Contenido de Acidez del extracto soluble de soya germinado</i> .....	38
<b>3.3</b>	<b>Recuento microbiano a partir del inóculo inicial en diferentes tiempos (0, 24, 48, 72 y 96 horas)</b> .....	<b>39</b>

<b>3.3.1</b>	<b><i>Recuento de Bacterias Ácido Lácticas</i></b> .....	<b>39</b>
<b>3.3.2</b>	<b><i>Recuento de Bacterias Ácido Acéticas</i></b> .....	<b>42</b>
<b>3.3.3</b>	<b><i>Recuento de Levaduras</i></b> .....	<b>44</b>
<b>3.3.4</b>	<b><i>Comportamiento simbiótico del Extracto Soluble de Soya Germinada con kéfir de leche</i></b> .....	<b>46</b>
	<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>49</b>
	<b>RECOMENDACIONES</b> .....	<b>50</b>
	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	
	<b>ANEXOS</b>	

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-3:</b>	Análisis bromatológico del Extracto soluble de soya germinada.....	31
<b>Tabla 2-3:</b>	Análisis fisicoquímico del extracto soluble de soya germinada.....	34
<b>Tabla 3-3:</b>	Recuento de bacterias acido lácticas a partir del inculo inicial en diferentes tiempos (0, 24, 48, 72 y 96 horas).....	35
<b>Tabla 4-3:</b>	Recuento de bacterias acéticas a partir del inculo inicial en diferentes tiempos (0, 24, 48, 72 y 96 horas).....	37
<b>Tabla 5-3:</b>	Recuento de levaduras a partir del inculo inicial en diferentes tiempos (0, 24, 48, 72 y 96 horas).....	39
<b>Tabla 6-3:</b>	Comportamiento simbiótico del extracto soluble de soya germinado inoculado con granos de kéfir en diferentes tiempos (0, 24, 48, 72 y 96 horas).....	42

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-1:</b>	Granos de soya ( <i>Glycine max</i> ).....	2
<b>Figura 2-2:</b>	Germinación del grano de soya.....	20
<b>Figura 3-2:</b>	Elaboración del extracto soluble germinado.....	22
<b>Figura 4-2:</b>	Método tradicional de obtención de kéfir.....	24

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1-3:</b>	Recuento de Bacterias Ácido Lácticas a las 0, 24, 48, 72 y 96 horas.....	41
<b>Gráfico 2-3:</b>	Recuento de Bacterias Acéticas a las 0, 24, 48, 72 y 96 horas.....	43
<b>Gráfico 3-3:</b>	Recuento de Levaduras a las 0, 24, 48, 72 y 96 horas.....	45
<b>Gráfico 4-3:</b>	Comportamiento simbiótico del Extracto soluble de soya germinado inoculada con granos de kéfir de leche .....	46

## ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** ACTIVACIÓN DEL KÉFIR DE LECHE
- ANEXO B:** SELECCIÓN E INSPECCIÓN DE LOS GRANOS DE SOYA PARA GERMINACIÓN
- ANEXO C:** PROCESO DE GERMINACIÓN DE LA SOYA (REMOJO E HIDRATACIÓN)
- ANEXO D:** CRECIMIENTO DE LA RADÍCULA EN EL GRANO GERMINADO
- ANEXO E:** ELABORACIÓN DEL EXTRACTO SOLUBLE DE SOYA GERMINADO (SELECCIÓN Y PELADO DE LA MATERIA PRIMA)
- ANEXO F:** ELABORACIÓN DEL EXTRACTO SOLUBLE DE SOYA GERMINADO (ESCALDADO)
- ANEXO G:** ELABORACIÓN DEL EXTRACTO SOLUBLE DE SOYA GERMINADO (LICUADO Y CALENTAMIENTO)
- ANEXO H:** ELABORACIÓN DEL EXTRACTO SOLUBLE DE SOYA GERMINADO (FILTRACIÓN)
- ANEXO I:** ELABORACIÓN DEL EXTRACTO SOLUBLE DE SOYA GERMINADO (PASTEURIZACIÓN, ENFRIAMIENTO Y ALMACENAMIENTO)
- ANEXO J:** ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DE AZUCARES TOTALES DEL EXTRACTO SOLUBLE DE SOYA GERMINADA (HUMEDAD, CENIZA Y FIBRA)
- ANEXO K:** ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DE AZUCARES FERMENTABLES DEL EXTRACTO SOLUBLE DE SOYA GERMINADA
- ANEXO L:** ANÁLISIS BROMATOLÓGICO EN GRASA Y PROTEÍNA DEL EXTRACTO SOLUBLE DE SOYA GERMINADA
- ANEXO M:** ANÁLISIS FISCOQUÍMICO DEL EXTRACTO SOLUBLE DE SOYA GERMINADA (PH Y ACIDEZ)
- ANEXO N:** ANÁLISIS DE LA INOCUIDAD DEL EXTRACTO SOLUBLE DE SOYA GERMINADA EN *E. COLI* Y *SALMONELLA*
- ANEXO O:** ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS, ACÉTICAS Y LEVADURAS PRESENTES EN EL EXTRACTO SOLUBLE DE SOYA GERMINADA CON KÉFIR DE LECHE
- ANEXO P:** ANÁLISIS DE AZUCARES TOTALES DEL EXTRACTO SOLUBLE DE SOYA GERMINADA

- ANEXO Q:** ANÁLISIS DE AZUCARES FERMENTABLES DEL EXTRACTO SOLUBLE DE SOYA GERMINADA
- ANEXO R:** ANÁLISIS DE PROTEÍNA DEL EXTRACTO SOLUBLE DE SOYA GERMINADA
- ANEXO S:** ANÁLISIS FISICOQUÍMICO DEL EXTRACTO SOLUBLE DE SOYA GERMINADA
- ANEXO T:** ANÁLISIS FISICOQUÍMICO DEL EXTRACTO SOLUBLE DE SOYA GERMINADA
- ANEXO V:** ANÁLISIS DE GRADO BRUX DEL EXTRACTO SOLUBLE DE SOYA GERMINADA

## RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue analizar el comportamiento simbiótico del kéfir de leche utilizando como sustrato el germen de soya (*Glycine max*), para lo cual se realizó el germinado mediante el método del tarro de cristal por 4 días, posteriormente se obtuvo el extracto soluble del germinado de soya con una relación 1:3 (grano de soya: agua). Se inoculó 3% de los granos de kéfir (activado) con el extracto soluble del germinado. El extracto soluble del germinado de soya presentó un contenido de azúcares totales de 5.57% y carbohidratos fermentables de 3.37 g/L (sacarosa) que sirvieron como fuente de reserva, además de los lípidos con 1.40% empleándose en las actividades catabólicas del grano, mientras que las proteínas incrementaron el nitrógeno soluble de la leguminosa con 6.66%. La bebida presentó un pH de 6.67 y una acidez de 0.17% ácido láctico. El recuento de la población microbiana del extracto soluble del germinado de soya kéfirada alcanzó su fase de desarrollo logarítmico a las 24 horas en bacterias lácticas, a las 48 horas en bacterias acéticas y levaduras, consumiendo los nutrientes presentes en la bebida, los productos de su metabolismo influyen en el pH presente en el medio; la fase de declive en bacterias lácticas, acéticas y levaduras fue a las 72 horas, con un medio deficiente de nutrientes. La actividad simbiótica del kéfir de leche empleando el extracto soluble germinado fue mutualista, ya que los microorganismos presentes cooperaban para el crecimiento, con cambios favorables de pH y acidez, consumo de nutrientes y la creación de un ambiente adecuado. Se recomienda complementar la bebida con frutas o verduras que presenten una cantidad considerable de azúcares para mejorar el sustrato.

**Palabras clave:** <EXTRACTO SOLUBLE >, <GERMINADO >,< SOYA >, < KÉFIR DE LECHE>, , < POBLACIÓN MICROBIANA>, <SIMBIOSIS >, <BACTERIAS LÁCTICAS >, < BACTERIAS ACÉTICAS>, < LEVADURAS>.



0440-DBRA-UPT-2023

## ABSTRACT

The objective of this study was to analyze the symbiotic behavior of milk kefir using soybean germ (*Glycine max*) as substrate. Germination was performed using the glass jar method for 4 days. Subsequently, the soluble extract was obtained from the soybean germ with a 1:3 ratio (soybean grain: water). Three percent of the kefir grains (activated) were inoculated with the soluble extract of the sprout. The soluble extract of the soybean sprout had a total sugar content of 5.57% and fermentable carbohydrates of 3.37 g/L (sucrose), which served as a reserve source. In addition, lipids with 1.40% were used in the catabolic activities of the grain, while proteins increased the soluble nitrogen of the legume with 6.66%. The beverage had a pH of 6.67 and an acidity of 0.17% lactic acid. The microbial population count of the soluble extract of the kefir soybean sprout reached its logarithmic development phase at 24 hours in lactic acid bacteria, at 48 hours in acetic acid bacteria and yeasts, consuming the nutrients present in the beverage. The products of their metabolism influence the pH present in the medium. The phase of decline in lactic acid bacteria, acetic acid bacteria and yeasts was at 72 hours, with a medium deficient in nutrients. The symbiotic activity of milk kefir using the germinated soluble extract was mutualistic, since the microorganisms present cooperated for growth, with favorable pH and acidity changes, nutrient consumption and the creation of a suitable environment. It is recommended to supplement the beverage with fruits or vegetables that present a considerable amount of sugars to improve the substrate.

**Keywords:** <SOLUBLE EXTRACT >, <GERMINATE >, < SOYBEAN >, <MILK KEFIR>, <MICROBIAL POPULATION>, <SYMBIOSIS >, <LACTIC BACTERIA >, <ACETIC BACTERIA>, <YEAST>.

0440-DBRA-UPT-2023



Dra. Gloria Isabel Escudero Orozco MsC.

0602698904

## INTRODUCCIÓN

La semilla de la soya (*Glycine max*) se clasifica como una leguminosa, presenta un alto contenido de lípidos (18-22%), proteína (38-42%) y carbohidratos (25%) (Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, 1996. pp. 2-11). Según (Racines, 2011, pp. 44-45) dentro de la semilla se encuentra el germen que constituye el 2% del grano y sustancias de reserva, en el proceso de germinación se busca desdoblar los carbohidratos, proteínas y lípidos, a sustancias simples como azúcares, aminoácidos y energía mediante las fitohormonas giberelinas para la formación de una nueva planta (Pita & Pérez, 1998). Prado et al., (2015) menciona que, la bebida vegetal más usada como sustrato del kéfir de leche es el extracto soluble de soya, esto se debe a su contenido de oligosacáridos (rafinosa y estaquiosa), que es adecuada para el crecimiento de BAL y levadura, aminoácidos y péptidos que estimulan el crecimiento microbiano (Norberto et al., 2018). De acuerdo con Murugkar, (2014) el extracto soluble de soya con granos germinados causa la hidrólisis de macromoléculas, las cuales, mejorando la calidad de las leguminosas.

(Prado et al., 2015) dice que los gránulos de kéfir son una masa de contextura gelatinosa, con forma irregular similar a una coliflor con tonalidades blanco-amarillento se constituyen principalmente por bacterias acéticas, lácticas y levaduras, las cuales se encuentran en simbiosis, envueltas por exopolisacáridos (kefiran), intercambiando productos de sus metabolismos tales como fuente de energía y factor de crecimiento (Montero, 2020).

En la actualidad, la población busca consumir alimentos saludables, pero su consumo se restringe al empleo de la leche animal como sustrato del kéfir, afectando su ingesta a personas con intolerancia a la lactosa (Palencia, 2001). El kéfir de leche se encarga de favorecer el desarrollo de las bacterias benéficas en el cuerpo (microbiota intestinal) (Trujillo, 2019), la diversidad microbiana y su fácil adaptación a diferentes sustratos (Rodríguez- Figueroa et al., 2017), permite que el extracto soluble de soya germinado con kéfir de leche sea un sustituto ideal para incluirlo en la dieta de este sector poblacional (Norberto et al., 2018).

El presente trabajo de investigación tiene como objetivos, efectuar un análisis bromatológico y fisicoquímico del extracto soluble del germinado de soya (*Glycine max*); establecer la población de Bacterias Ácido Lácticas, Acéticas y levaduras a partir de un inóculo inicial en diferentes tiempos y determinar la actividad simbiótica de BAL, BAA y levaduras del extracto soluble germinado de soya (*Glycine max*) e inoculado con los gránulos de kéfir de leche en diferentes tiempos (0, 24, 48, 72 y 96 horas).

# CAPITULO I

## 1 MARCO TEÓRICO

### 1.1 Soya



**Figura 1-1.** Granos de soya (*Glycine max*)

Fuente: Soto, A.,2023

Escalona et al. (2009:p.4) comenta que, la soya (*Glycine max*) se clasifica como una leguminosa, pero por su elevada cantidad de aceites también es considerada como una semilla oleaginosa. Según el (Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, 1996. pp. 2-11) el grano de soya es valioso por su contenido de lípidos de 18 a 22% y proteína del 38 al 42%, además del 25% de carbohidratos. Las semillas se encuentran envuelta en vainas con una extensión de 2 a 7 cm y un diámetro de 1 a 2.5cm, el color del grano se encuentra en tonalidades entre amarillo claro, negro y café. Los granos que presentan un tamaño homogéneo, color claro, cubierta delgada generalmente posee una alta cantidad de proteínas ideales para la elaboración de “leche de soya” y tofu (Cocio, 2006. p.4)

Cocio, (2006. p. 4) dice que, la semilla de soya se compone de cascarilla con un 8%, el hipocótilo con 2% y el cotiledón con 90% del peso total de la semilla, los lípidos se encuentran en diminutos compartimientos denominados esferosomas (0.2 a 0.3 $\mu$ m) y los cuerpos proteicos están situados en aleuronas (2 a 20  $\mu$ m).

Escalona et al., (2009:p.6) infiere que, la soya es utilizada como materia prima para diferentes productos entre ellos, la bebida de soya además es considerado un alimento versátil que contiene una gran variedad de nutrientes y proteínas de elevada digestibilidad, convirtiéndose en una fuente

ideal en dietas de sustitución de proteína de origen animal. Según Racines, (2011, pp. 44-45) menciona que, la semilla de soya sometida a condiciones adecuadas puede generar una nueva planta debido a la presencia del germen la cual, tiene una reserva de alimento y se encuentra envuelto en una cubierta protectora.

### **1.1.1 *Germen de soya***

Según Cocio, (2006. p. 4) la semilla de soya está constituida de hipocótilo o germen de soya con un 2% del peso total del grano, con una densidad de nutrientes baja comparada con el grano y sus derivados, los cuales presentan un mayor contenido en su composición.

Riaz, (2006. pp.8-11) comenta que, el germen de soya está compuesto de 40% de proteínas, ácidos grasos esenciales, omega 3 y 6 lecitina, vitamina E, saponina e isoflavona (contiene 5 a 6 veces más que el grano), el germen es un alimento que se consume para obtener los beneficios del germinado.

Según Morales-Santos et al., (2017) a partir del embrión empieza el desarrollo de la germinación, las fitohormonas giberelinas son producidas por el germen, el cual produce enzimas que se encargan de desdoblar los carbohidratos, proteínas y fibra (Álvarez, 2012).

### **1.1.2 *Germinación de la soya***

De acuerdo con (Dueñas, 2008. p. 2) el germinado es considerado un proceso agroindustrial sencillo y económico, por el cual, la semilla incrementa su valor nutritivo. (Pita & Pérez, 1998) comenta que, la germinación de la soya inicia con el ingreso del agua dentro de la semilla y finaliza con el desarrollo de la radícula, en este proceso se evidencia la movilización de las reservas de la semilla, para alcanzar su supervivencia y realizar el proceso de la fotosíntesis.

Según Chen & Chang, (2015) el germinado de soya amarillo presenta mayor rendimiento en la industria en comparación al brote verde, mientras que, el germinado amarillo se encarga de metabolizar más macronutrientes y formar componentes bioactivos en comparación al brote verde.

La producción de germinado requiere el uso de poca cantidad de granos, ya que su volumen triplica en la germinación, la recolección debe ser en un tiempo correcto para aprovechar su valor nutricional, influyendo en el sabor, la consistencia y los nutrientes que presente la semilla

germinada (Miranda, 2021). La correcta germinación depende de las condiciones controladas de oxígeno (respiración aerobia), sustrato húmedo y una adecuada temperatura (Leon, 2019).

Ponce et al., (2013: p. 50) menciona que, la soya tiene un tiempo de remojo de 8 a 12 horas, a una temperatura de 20 a 21°C con cuatro enjuagues al día, en condiciones de luz baja por 2 a 5 días, cuando el germinado de soya alcanza una longitud de 2.5 a 3.5 cm, se encuentra en estado óptimo para ser consumido (Miranda, 2021).

### **1.1.3 Efecto de la germinación sobre la soya**

Leon, (2019) infiere que, la germinación se considera un proceso catabólico, que se encarga de degradar las proteína, grasas y carbohidratos a sustancias simples como aminoácidos, energía y azúcares simples, además, permiten que se inactiven algunos factores antinutricionales. Los factores antinutricionales como fitatos y  $\alpha$ -galactósidos se degradan para la formación de una nueva planta, además actúan como una fuente de reserva que provee de elementos nutritivos fundamentales para el crecimiento de la planta (Cobaxin, 2011,p.33).

Según Ghani et al., (2016: p.400) el grano de soya se encuentra en estado latente antes de germinar, en el proceso de remojo, las enzimas se encargan de la germinación, se activan y empiezan algunos cambios bioquímicos dentro de la semilla. En la germinación de la soya se metabolizan los lípidos en energía, las proteínas cumplen la función de almacenamiento y los carbohidratos se encargan de satisfacer otras funciones biológicas (Chen & Chang, 2015).

Murugkar, (2014) menciona que, en la germinación los lípidos se oxidan para producir energía, liberando CO<sub>2</sub> además, provoca la pérdida de masa lipídica; en las proteínas se produce la movilización de las reservas almacenadas en los cotiledones y existen cambios en la composición de los aminoácidos solubles, las proteínas se desdoblán en moléculas de menor tamaño para su reutilización en el crecimiento de la planta.

Ponce et al., (2013:pp 51-54) dice que, la cantidad de hidratos de carbono en la soya es poco estable y depende de su fenotipo, en la germinación se produce la hidrólisis que disminuye los carbohidratos totales y solubles de la soya, utilizándose como fuente de energía, en donde, los azúcares disminuyen en 19.9% llegando a valores de 14% después de los 7 días de brotación, parte de esta reducción se da en la estaquiosa y rafinosa (Ghani et al., 2016: p.403).

De acuerdo con Elorza, (2016) la germinación es una alternativa para consumir la soya cruda, generando un estado de predigestión que facilita la asimilación en el organismo humano. Al utilizar la soya germinada para la producción del extracto soluble de soya, permite que el producto sea más digerible y nutritivo que la de soya sin germinar (Nsofor & Osuji, 1997).

## **1.2 Sustratos utilizados para el kéfir de leche**

Rosa et al., (2017:p.83) comenta que, la leche animal se usa como sustrato tradicional de los granos de kéfir de leche esta puede ser entera, semidescremada o desnatada de vaca (más común), oveja, cabra y búfala, esto se debe a la calidad de nutrientes aprovechables para la fermentación del kéfir que contiene la leche, la consistencia usando leche animal es parecida al yogurt (dependiendo del contenido de grasa de la leche).

Ferrari et al. (2020: p. 137) dice que, el kéfir tiene alternativas de sustratos, entre las que se encuentran bebidas vegetales a base de nuez y de coco entre otras. Arslan, (2015) infiere que, se puede utilizar leche vegetal de frijoles como, judías verdes, frijoles tolo, frijoles rojos y cacahuets, pero este tipo de sustratos no lácteos requieren la adición de glucosa, lactosa o sacarosa al 1% para generar el crecimiento de los microorganismos presentes en el kéfir. El uso de las bebidas no lácteas debilita al gránulo, por lo cual, después de ciclos de fermentación se debe colocar en leche para su recuperación (Ferrari et al., 2020: p. 140).

De la misma manera, Prado et al. (2015) menciona que, la bebida vegetal más usada como sustrato del kéfir de leche es el extracto soluble de soya, debido a que existen países que presentan dificultad para consumir leche animal. Según Norberto et al., (2018: p.18) informa que, existen hallazgos que respaldan la sustitución total de la leche por extracto de soya soluble como sustrato alternativo para la fermentación de kéfir de leche, siendo esta una propuesta viable para el aprovechamiento de los beneficios de esta bebida.

### **1.2.1 *Extracto soluble de soya germinada***

Murugkar, (2014) dice que, la germinación mejora el estado nutricional y la calidad de las leguminosas germinadas, por esta razón, los granos de soya germinados se están usando para la elaboración de productos como la leche de soya o tofu, así también Benincasa et al., (2019) comenta que, los brotes son extraídos para la fabricación de bebidas o deshidratados, utilizados en la producción de harinas enriquecidas.

El extracto soluble de soja con granos germinados causa hidrólisis de macromoléculas, las cuales facilitan la digestión, presentando un incremento de proteína bruta del 7 %; una reducción de grasa del 24%; disminución de inhibidor de tripsina de 73% y de ácido fítico de 59% en la leche de soja germinada, la brotación es beneficiosa para el desarrollo de los productos (Murugkar, 2019). Campos & Ponce, (2017: p. 4) menciona que, el proceso de germinación mejora el valor biológico de las bebidas.

#### 1.2.1.1 *Características bromatológicas y fisicoquímicas de extractos solubles germinados*

##### - **Características bromatológicas del extracto soluble germinado**

Jiang et al. (2013) en el estudio “Mejora de la calidad alimentaria de la leche de soja elaborada a partir de soja germinada a corto plazo” infiere que, el contenido de hidratos de carbono es de 0.54%, un contenido de grasa de 1.33% y proteína de 2.66% con 28 horas de germinación.

Murugkar, (2014) en la publicación “Efecto de la germinación de la soja sobre la composición química y la calidad de la leche de soja y tofu” informa que, el extracto soluble de soja elaborado con la semilla de soja germinada (variedad JS335-G) cultivada en la India, presenta un contenido de grasa de 1.5% y proteína de 4.1%.

Bansal & Kaur, (2015) es su investigación “Mejora de la calidad y evaluación sensorial de leche de soja preparada con soja germinada” se informa que, el contenido de carbohidratos fue de 0.50%, el valor de lípidos 1.28% y contenido de proteínas de 3.11% con 28 horas de germinación.

Castro & Chía, (2020) en el trabajo de investigación “Evaluación del aporte nutricional y riesgos para la salud asociados al consumo de germinados” menciona que, los productos germinados de frijol el contenido de carbohidratos totales es de 5.94 % y azúcares fermentables de 4.13%, además de lípidos del 0.18% y proteínas de 3.04%.

##### - **Características fisicoquímicas del extracto soluble germinado**

Jiang et al. (2013) en el estudio “Mejora de la calidad alimentaria de la leche de soja elaborada a partir de soja germinada a corto plazo” infiere que, el contenido de pH de 6.51 con 28 horas de germinación.

Ccoyllo, (2019) en la publicación “Elaboración de una bebida energética gasificada a partir de maltas de quinua (*Chenopodium quinoa*), Kañihua (*Chenopodium pallidicaule*) y cebada (*Hordeum vulgare*)” reporta que la bebida energética gasificada elaborada con malta de quinua, kañihua y cebada presenta un valor de pH de 3.50 y una acidez de 0.19%.

Álvarez, (2012) en el estudio “Elaboración y caracterización de dos bebidas proteicas, una a base de quinua malteada y otra a base de quinua sin maltear (*Chenopodium quinoa*), el contenido de pH es de 4.05 y presenta una acidez en la bebida proteica a base de quinua malteada de 0.24%, expresados en base húmeda.

Norberto et al., (2018) menciona que, el extracto de soja al igual que la leche, es adecuado para el crecimiento de BAL y levadura porque ambos tienen oligosacáridos (rafinosa y estaquiosa) aminoácidos y péptidos que estimulan el crecimiento microbiano. El extracto soluble de soja usando la germinación de los frijoles es una alternativa para la producción de productos fermentados o no fermentados, ya que optimiza sus compuestos nutricionales, lo que lo convierte en un sustrato apropiado para el crecimiento y actividad de las bacterias lácticas por su contenido en fructooligosacáridos, aminoácidos y péptidos, pudiendo proporcionar una bebida fermentada, con propiedades sensoriales adecuadas, que pueden enmascarar el sabor característico de la soja y disminuir los fructooligosacáridos no digeribles (Oyedeki, 2018).

### **1.2.2 Productos fermentados con Extracto Soluble de Soya**

Loor et al. (2010) en el estudio “Bebida nutricional a partir de la mezcla fermentada maíz-soya” comenta que, se evidencia la formulación de una bebida fermentada de maíz-soya germinada a las 24 horas, aplicando concentraciones de yogurt natural, el cual presenta buenas características sensoriales y nutricionales.

Quicazán et al., (2001) en el trabajo denominado “Evaluación de la fermentación de la bebida de soya con cultivo láctico” dice que, el extracto acuoso se fermenta con un cultivo láctico termófilo, constituido por *L. delbrueckii* ss. *bulgaricus*, *L. delbrueckii* ss. *laciis* y *S.salivarius* ss. *Thermophilus*. A pesar de que la bebida no contiene lactosa se generó una correcta producción de ácido láctico.

Norberto et al., (2018) en la investigación “Impacto de la sustitución parcial y total de la leche por extracto de soja soluble en agua sobre los parámetros de fermentación y crecimiento de los microorganismos del kéfir” menciona que, los parámetros de crecimiento de las bacterias lácticas y levaduras no se ven afectadas en bebidas preparadas con leche de soja y kéfir.

### **1.3 Granos de kéfir**

Caiza, (2019) infiere que, los granos de kéfir o nódulos son un conjunto de microorganismos envueltos por una matriz de polisacáridos, según Ferrari et al., (2020, p.138) dice que su origen es caucásico, el cual, se relaciona con un estado óptimo de salud, así como su nombre “keif” que significa “vivir bien”, estos gránulos se propagan hace generaciones, por más de 4000 años.

De acuerdo con Ramírez, (2020.p.15) los gránulos de kéfir son una masa de contextura gelatinosa, que presenta una forma irregular y multilobular similar a una coliflor con tonalidades blanco-amarillento, presenta una consistencia elástica y tiene un tamaño variable de 0.3 a 3.5 centímetros, generalmente crecen en forma de manto.

Barrios & Quispe, (2014: pp. 26-28) comenta, que la producción de los granos de kéfir es a partir de otros gránulos preexistentes, la leche fermentada con los gránulos de kéfir se caracteriza por ser refrescante, presenta burbujas y un aroma suave.

Norberto et al., (2018) infiere que, las consecutivas fermentaciones hacen que aumente el tamaño de los gránulos de kéfir y genera uno con nuevas características, aumentando su biomasa en 2% con cada repique, la calidad de la fermentación del grano de kéfir de leche es superior a la de agua. Según Barrón, (2006) citado en Trujillo, (2019.p. 2019) menciona que cada gránulo contiene:

- Lactobacilos, bacterias ácido lácticas.
- Acetobacterias, bacterias ácido acéticas
- Levaduras y otros microorganismo responsables de la formación del kefiran

#### **1.3.1 *Microbiota de los gránulos de kéfir de leche***

Grao, (2020) comenta que, los gránulos están compuestos de bacterias y levaduras, pero no en la misma proporción, en donde, las bacterias lácticas son más abundantes que las levaduras y estas se encuentran en mayor cantidad que las bacterias acéticas.

De acuerdo con Ferrari et al. (2020) informa que, la población microbiana está conformada por bacterias ácido lácticas ( $10^8$ - $10^9$  UFC/g de gránulo), levaduras ( $10^7$ - $10^8$  UFC/g de gránulo) y bacterias ácido-acéticas ( $10^5$ - $10^6$  UFC/g de gránulo), donde los productos generados por algunos microorganismos durante la fermentación pueden ser utilizados como fuente de energía o factores de crecimiento.

Alvarado, (2018) de la misma manera comenta que, la microbiota presente en los granos de kéfir de leche se compone de especies de bacterias ácido láctico de  $10^8$  a  $10^9$  UFC/g, bacterias ácido acéticas de  $10^5$  a  $10^6$  UFC/g y levaduras  $10^7$  a  $10^8$  UFC/g. Según Martín, (2018) infiere que estas especies se clasifican en cuatro grupos, detallados a continuación:

- Bacterias Ácido-Lácticas homofermentativas, incluyen especies de *Lactobacillus* como: *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*, *L. helveticus*, *L. kefiranofaciens subsp. kefiranofaciens*, *L. kefiranofaciens subsp. kefirgranum* y *L. acidophilus*; *Lactococcus spp.* Como *L. lactis subsp. lactis* y *L. lactis subsp. cremoris* y *Streptococcus thermophilus*
- Bacterias Ácido-Lácticas heterofermentativas como: *L. kefir*, *L. parakefir*, *L. fermentum* y *L. brevis* y cepas positivas de citrato *L. lactis* (*L. lactis subsp. L. biovar diacetylactis*), *Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris*, y *Leuconostoc mesenteroides subsp. mesenteroides*.
- Bacterias Acéticas de género acetobacterias como: *Acetobacter aceti*, *Acetobacter rasens*. (Barrios et al., 2014)
- Levaduras fermentadoras de lactosa se encuentran: *Kluyveromyces marxianus*, *Candida kefyr*, *Kluyveromyces lactis var. lactis*, *Debaryomyces hansenii*. Levaduras no fermentadoras de lactosa se encuentran: *Saccharomyces cerevisiae*, *Torulaspora delbrueckii*, *Pichia fermentans*, *Kazachstania unispora*, *Saccharomyces turicensis*, *Issatchenkia orientalis* y *Debaryomyces occidentalis* (Martín, 2018)

#### 1.3.1.1 Población de Bacterias Ácido Lácticas, Acéticas y levaduras del inoculo inicial (granos de kéfir y sustratos no lácteos).

Baú et al., (2015) en la investigación “Cambios en la leche de soya durante la fermentación con cultivos de kéfir: hidrólisis de oligosacáridos y producción de isoflavonas agliconas” reporta que, a las 0 horas presenta un conteo de 7.8 log UFC/g de bacterias ácido lácticas, 7.4 log UFC/g de bacterias acéticas y levaduras de 6 log UFC/g mientras que, a las 24 h presento una población de 8.5 log UFC/g, bacterias acéticas 8.2 log UFC/g y levaduras de 6 log UFC/g, en las 30 horas de fermentación se evidencio para las bacterias ácido lácticas un valor de 8.4 log UFC/g, bacterias

ácido acético de 7.8 log UFC/g y de levaduras de 6 log UFC/g, a una temperatura de 25°C con un ambiente aerófilo.

Yugsi,(2022) en el estudio “Evaluación de las propiedades físico-químicas, microbiológicas y sensoriales de kéfir elaborado con leche de almendra (*Prunus dulcis*) y de kéfir elaborado con leche de soya (*Glycine max*)” menciona que, la población de bacterias ácido lácticas a las 24 horas fue de 7.690 log UFC/ml y a las 48 horas el conteo fue de 7.88 log UFC/ml mientras que, en levaduras a las 24 horas presentó una población de 7.82 log UFC/ml y 7.924 log UFC/ml a las 48 horas. El análisis se realizó en un ambiente anaeróbico a temperatura de 25°C, utilizando 10% de gránulos de kéfir.

Abdolmaleki et al., (2015) en su trabajo investigativo “Evaluación de bebidas elaboradas con leche, leche de soya y suero utilizando cultivo iniciador de kéfir iraní” dice que, la leche de soya inoculada con granos de kéfir presenta un recuento microbiano de lactobacilos de 8 log UFC/ml, lactococos de 8.25 log UFC/ml y levaduras de 3.30 log UFC/ml a las 24 horas de fermentación además, a las 48 horas presentó un contenido de Lactobacilos de log 7.80 UFC/ml, Lactococos de 8 log UFC/ml y levadura de 3.40 log UFC/ml; a las 168 horas presenta un conteo microbiano de 7.50 log UFC/ml lactobacilos, 7 log UFC/ml de lactococos y levadura de 3.35 log UFC/ml.

Montero, (2021) dice que las bacterias acéticas, lácticas y levaduras están en el gránulo de kéfir mediante una asociación simbiótica, interactúan para cambiar sus productos generados por su metabolismo.

### **1.3.2 Procesos fermentativos del gránulo de kéfir**

Leonardo, (2017. p. 46) dice que, inicialmente las bacterias se alimentan de carbohidratos, después de las proteínas y finalizan con los lípidos. Cejudo-Valentín et al., (2019.p. 44) comenta que el residuo metabólico de las bacterias, sirven de fuente energética para las levaduras y éstas proveen a las bacterias de aminoácidos, vitaminas y factores de crecimiento. La fermentación del kéfir se desarrolla de manera paralela tanto en la fermentación láctica como en la fermentación alcohólica (Leonardo, 2017).

Ávila-Reyes et al. (2022) menciona que, en las primeras horas de fermentación del kéfir, las bacterias selectivas consumen los aminoácidos encontrados en la leche, cuando la fermentación decae el kéfir entra en una etapa de maduración, la actividad proteolítica de otros

microorganismos (levaduras y bacterias) permiten que se formen más péptidos y aminoácidos libres.

Ramírez, (2020) menciona que, el pH es un parámetro fundamental para las levaduras y hongos que toleran ambientes ácidos, el pH debe estar en un rango de 4.35 a 4.5 y el ácido láctico entre 8.18 a 8.20 para que la microflora del grano se conserve en condiciones apropiadas. En la culminación de la fermentación el pH debe tener un valor de 4.2 a 4.7, con un contenido de ácido láctico de 0.8-1.2%, con una acidez de 13 a 18 °Dornic.

González-Orozco et al.,(2022) dice que, la fermentación del kéfir se realiza a una temperatura de 20 a 25°C durante un tiempo de 24 a 72 horas, en donde, la lactosa se degrada a ácido láctico principalmente por la enzima  $\beta$ -galactosidasa producida por las bacterias lácticas presentes en los granos, provocando una caída de pH de 4.0 a 4.6 además, la fermentación genera CO<sub>2</sub> y etanol (0.5-2%), las cuales son generadas por levaduras y bacterias lácticas heterofermentativas, además de los compuestos aromáticos y compuestos de sabor como aldehídos, diacetil, ácido acético y ácido propiónico. El kéfir de leche tiene 3 tipos de fermentaciones: fermentación láctica, acética y alcohólica para su desarrollo (Avila-Reyes et al., 2022).

#### 1.3.2.1 *Fermentación Láctica*

Orozco, (2011. pp.7-9) dice que, este proceso convierte la glucosa y hexosas en lactato, la fermentación se produce en el citoplasma celular. La fermentación láctica está compuesta generalmente de bacterias de la familia lactobaciláceas, este grupo no es homogéneo por que presenta diferentes formas como: bacilos largos, cortos y cocos. Todas sus especies son Gram positivas, catalasa negativa, no formadoras de esporas, inmóviles y anaerobios o microaerófilos, depende de la cantidad de ácido láctico producido se dividen en homofermentativas y heterofermentativas.

**Homofermentativas.** En este proceso fermentativo se tiene como único producto el ácido láctico, a partir de la glucosa, se utiliza la vía glucolítica de Embden-Meyerhof (Carbonero, 1969. pp. 8-9), la cual, se encarga de disminuir el pH del producto, aumentando sus características químicas, microbiológicas y organolépticas (Rivas, 2013.pp. 9-10).

García et al., (2010) menciona que se presentan alta tolerancia a pH por debajo de 5.0 con una temperatura óptima de crecimiento de 20°C a 40°C dependiendo de los géneros, se inhibe a una temperatura de 15°C.

Lengkey & Balia, (2014,p. 343) comenta que, en la fermentación la producción de ácido láctico es a partir de las 8 horas, con una producción máxima de 12 a 24 horas dependiendo del sustrato y la cantidad de kéfir utilizado para la fermentación, generando un pH de 4.35 a 4.5.

**Heterofermentativas.** Este proceso fermentativo utiliza la vía de las hexosas, generando productos como ácido láctico, etanol, CO<sub>2</sub> y en algunos casos ácido acético una relación 1:1:1. Su temperatura optima se encuentra en un rango de 22 a 34 °C, en su mayoría son termófilas (Carbonero, 1969). Baú et al.,(2015) menciona que, en bacterias lácticas heterofermentativas se encuentra el crecimiento máximo a las 15 horas de fermentación con un sustrato no lácteo.

#### 1.3.2.2 *Fermentación Acética*

Según Montero, (2021, p.10) infiere que, este proceso fermentativo se debe a la acción de bacterias del género *Acetobacter*, estas bacterias oxidan el etanol, para generar como producto final ácido acético (vinagre) y agua. Necesitan de una fuente de oxígeno considerable para su crecimiento y actividad.

Muller, (2005.p. 9) dice que, en la fermentación acética actúan las *Acetobacter* oxidando el etanol en ácido acético; el acetato y lactato a CO<sub>2</sub> y agua, mientras que el *Gluconobacter* se encarga de oxidar más a la glucosa que al etanol. Son Gram negativas, catalasa negativa y oxidasa positiva, presentan formas elipsoidales, rectas o ligeramente curvas, se desarrollan en un ambiente aerobio estricto con un pH de 5.4 a 6.3

Según Ferreyra et al.,(2012. p. 62) menciona que, un excesivo suministro de aire puede afectar la composición de medio, produciendo una disminución de calidad y rendimiento del producto, la temperatura ideal de esta fermentación es de 28 a 30°C, esta variable influye en el rendimiento del producto. Davines, (2015) comenta que, el género *Acetobacter* tienen bacterias super oxidantes que se encuentran en un periodo de fermentación de 48 a 72 horas, pasado este tiempo es probable que se comiencen a consumir el ácido acético producido.

#### 1.3.2.3 *Fermentación alcohólica.*

Según Novillo, (2021, p.21) comenta que, la fermentación alcohólica se produce a partir de levaduras, mohos y bacterias, principalmente por levaduras en un proceso anaerobio. Se encarga

de transformar la glucosa en etanol, dióxido de carbono y ATP que sirve de energía para sus propios microorganismos.

De acuerdo con Montero, (2021, p.11) el CO<sub>2</sub> en la fermentación se escapa de manera gradual, mientras que el etanol se acumula, este proceso es llevado a cabo principalmente por la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, la cual se desarrolla en concentraciones de azúcar de 10-18%, con un ambiente anaerobio en un rango de temperatura de 15-25°C.

Suárez-Machín et al., (2016, pp. 21-22) menciona que, producción de levaduras crecen de manera conjunta con el contenido de alcohol a partir de las 15 a 20 horas, la velocidad de producción de alcohol decrece a partir de las 24 a 30 horas de fermentación, con una preferencia de pH de 4.5 a 6.5 es decir un ambiente ligeramente ácido.

En concordancia con Carbonero, (1969) la fermentación alcohólica se basa en el esquema metabólico de la vía glicolítica de Embden-Meyerhof hasta el ácido pirúvico. Las cepas de *Saccharomyces cerevisiae* son útiles para la fermentación de hexosas, *Candida pseudotropicalis* en la fermentación de lactosa y *Candida utilis* en la de pentosas. Lopitz et al. (2006, p. 68) infiere que los gránulos de kéfir de leche son un claro ejemplo de simbiosis entre levaduras y bacterias, considerándose un alimento probiótico.

#### 1.3.2.4 *Fermentación de los granos de kéfir de leche con sustratos no lácteos.*

Yugsi,(2022,pp. 24-26) en el estudio “evaluación de las propiedades físico-químicas, microbiológicas y sensoriales del kéfir elaborado con leche de almendra (*Prunus dulcis*) y de kéfir elaborado con leche de soya (*Glycine max*)” comenta que, un sustrato poco conocido para fermentar los gránulos de kéfir es la leche de almendras que contiene carbohidratos como sacarosa, rafinosa y estaquiosa, siendo análoga de la leche de soya, al no ser considerada una bebida láctea los microorganismos consumen principalmente sacarosa para el proceso de fermentación, dando como resultado un incremento del contenido de ácido láctico de 795.13 mg/100mL en un tiempo de fermentación de 48 horas y un crecimiento máximo de levaduras en este tiempo, de la misma manera, Bernat et al.,(2014) citado en Yugsi, (2022,p.18) dice que, no existen reportes de la fermentación de los granos de kéfir.

Norberto et al., (2018) menciona que, se utiliza como sustrato del kéfir de leche el extracto soluble de soya, debido a que los carbohidratos del sustrato como la rafinosa (azúcar no reductor) y

estaquiosa al ser inoculado con el kéfir da como resultado la degradación a fructosa, glucosa y galactosa mediante la hidrólisis, el cual, consumen los microorganismos presentes en el grano de kéfir. Se reporta una producción máxima de 1.2 mg/L de ácido láctico a las 20 horas de fermentación; la fermentación alcohólica produce etanol además de ácido acético y glicerol, con una producción de metanol de 9 mg/L a las 18 horas y en la fermentación acética genera un contenido máximo de ácido acético de 60 mg/L a las 16 horas de fermentación, a una temperatura de 25°C (Norberto et al.,2018).

Según Je-Ruei & Chin-Wen, (2008) cuando se utiliza el extracto soluble de soya, se necesita de galactosidasa para digerir los azúcares, las bacterias lácticas poseen esta enzima que le permite el crecimiento y producción de ácido láctico, mientras que las levaduras son importantes en la fermentación por su producción de etanol y dióxido de carbono, producto de la simbiosis que le brinda su sabor característico.

### **1.3.3 Simbiosis del gránulo de kéfir de leche.**

De acuerdo con Rodas, (2019. p.18) el kéfir representa una simbiosis microbiana compleja y dinámica de bacterias ácido lácticas, bacterias ácido acéticas y levaduras. Los gránulos de kéfir se encuentran en simbiosis, capturado por la matriz de polisacáridos (kefiran), los microorganismos se mantienen en equilibrio estable y específico, presentando una relación entre el crecimiento y la supervivencia de cepas.

Grao, (2020) comenta que, en la fermentación, las bacterias lácticas van a crecer rápidamente, produciendo ácido láctico, disminuyendo el pH, la producción elevada de ácido láctico puede inhibir el crecimiento de estas bacterias. Algunas levaduras utilizan el ácido láctico como fuente de carbono, disminuyendo su concentración y aumentando el pH, generando un ambiente apto para que las bacterias lácticas sigan creciendo. Carrá et al., (2007) infiere que, las bacterias acéticas se encargan de oxidar el ácido láctico y usan el etanol generado por las levaduras y las bacterias heterofermentadoras para la biosíntesis de ácido acético.

En concordancia con De la Mano, (2021.p. 321) las levaduras se benefician del medio acidificado producido por las bacterias, encargándose de oxidar el azúcar para producir alcohol, la variedad más estable es la *Saccharomyces cerevisiae*, especie que se adapta a crecer en ambientes con pH bajo y con poco oxígeno. Grao, (2020) menciona que, *S. cerevisiae* consume ácido láctico

producido por *L. kefiranofaciens*, potenciando su crecimiento y fomentando la producción del kefiran.

Abdolmaleki et al.,(2015) en el estudio “evaluación de bebidas a base de leche, leche de soja y suero utilizando cultivo iniciador de kéfir iraní” dice que, inoculando en los granos de kéfir con leche animal el recuento microbiano de bacterias lácticas presenta un valor de 8.25 log (UFC/mL) y 3.35 log (UFC/mL) de levaduras a las 24 horas de fermentación con un pH de 4.40; a las 48 horas el valor disminuyó a 8.10 log (UFC/mL) y levaduras de 3.40 log (UFC/mL) a las 48 horas se redujo el contenido de pH a 4.30, se fermentó en todo el proceso a 25°C utilizando 3% de granos de kéfir.

Gamba et al.,(2020) en el trabajo “Caracterización química, microbiológica y funcional del kéfir producido a partir de leche de vaca y leche de soja” menciona que, los granos de kéfir inoculado con leche animal, presentó un conteo microbiano de  $6.20 \times 10^7$  UFC/ml de bacterias lácticas,  $3.11 \times 10^6$  UFC/ml de bacterias acéticas y levaduras de  $2.86 \times 10^6$  UFC/ml a las 24 horas de fermentación un pH de 4.39; a las 96 horas de fermentación el recuento incrementa a  $9.35 \times 10^8$  UFC/ml de bacterias lácticas,  $6.50 \times 10^7$  UFC/ml de bacterias acéticas y  $1.90 \times 10^7$  UFC/ml de levaduras el pH disminuyen a 4.08, se sometió a una temperatura de 25°C y se inocula con 10% de granos de kéfir.

Según Ávila-Reyes et al. (2022) menciona que, se han empleado algunos sustratos para la fermentación de los granos de kéfir, como monosacáridos (glucosa, galactosa, fructosa) y disacáridos (lactosa, sacarosa), aumentando el tiempo de fermentación por el cambio de sustratos, pero manteniendo la simbiosis microbiana.

#### 1.3.3.1 *Actividad simbiótica de bacterias ácido lácticas, bacterias acéticas y levaduras usando extracto soluble inoculado con los gránulos de kéfir de leche.*

Norberto et al.,(2018) en el estudio “Impacto de la sustitución parcial y total de la leche por extracto de soja soluble en agua sobre los parámetros de fermentación y crecimiento de los microorganismos del kéfir” menciona que, a las 0 horas se evidenció un recuento inicial microbiano de 7.5 log UFC/ml de bacterias ácido lácticas y 5.9 log UFC/ml de levaduras con un pH de 6.6 y una acidez de 0.20% de ácido láctico; a las 20 horas incrementó su recuento de 8.3 log UFC/ml de bacterias ácido lácticas y 6.1 log UFC/ml de levaduras, disminuyendo su pH a 3.9 y una acidez de 0.59% de ácido láctico, al reducir el pH a valores menores a 4, las proteínas se

precipitan debido a que la acidez que provoca compuestos como ácido láctico, acetaldehído, diacetilo entre otros. Se utilizó una temperatura de fermentación para todo el proceso de 25°C en un ambiente aerobio, con una formulación de 100% de extracto soluble de soya.

Gamba et al., (2020) en la investigación “Características químicas, microbiológicas y funcional del kéfir producido a partir de leche de vaca y leche de soya” comenta que, el kéfir de leche con soya como inóculo inicial presenta un pH de 6.61, a las 24 horas de fermentación, los lactobacilos presentaron un crecimiento de 9.39 log UFC/ml de bacterias lácticas y 5.02 log UFC/ml levaduras con una disminución de pH de 4.47 UFC/ml; a las 96 horas de fermentación se evidenció una población de 9.498 UFC/ml de bacterias lácticas y con un crecimiento débil de 4.415 log UFC/ml en levaduras, mientras que las bacterias ácido acéticas presentaron valores insignificantes en los dos periodos con valores menores a 3.47 log UFC/ml, por lo que no se registra el conteo, se presenta un pH de 4.36, inoculado con 10% de granos de kéfir de leche, la temperatura de fermentación de todo el proceso fue de 25°C.

Fernandes et al., (2017) en artículo “Evaluación del contenido de isoflavonas y fenoles totales del almacenamiento de leche de soja fermentada con kéfir y después de la simulación del sistema digestivo” reporta que, inmediatamente después de la inoculación del cultivo en la leche de soya fueron aproximadamente 5.81 log UFC/g para bacterias lácticas, 5.91 log UFC/g bacterias acéticas y 5.6 log UFC/g levaduras con un pH inicial de 6.62. El conteo aumentó a las 24 horas en bacterias lácticas 8.3 log UFC/g, bacterias acéticas de 7.8 log UFC/g y 5.9 log UFC/g de levaduras con un descenso de pH de 4.54. En las 48 horas de fermentación las bacterias lácticas presentaron un valor de 8.5 log UFC/g, bacterias acéticas de 7.8 log UFC/g y 5.7 log UFC/g de levaduras, mientras que a las 96 horas se evidencia un conteo de bacterias lácticas 8.3 log UFC/g, bacterias acéticas de 3.8 log UFC/g y 6 log UFC/g de levaduras con un pH de 4.72. La temperatura de fermentación fue de 25°C en un ambiente microaerófilo.

Je-Ruei & Chin-Wen, (2008) en la investigación “Producción de kéfir a partir de leche de soya con y sin glucosa, lactosa o sacarosa añadidas” menciona que, a las 0 horas presentó una población inicial de 7.5 log UFC/ml de bacterias lácticas y levaduras de 4.8 log UFC/ml; a las 24 horas las bacterias lácticas incrementaron con un valor de 8.8 log UFC/ml y levaduras de 5.2 log UFC/ml; a las 32 horas de fermentación las bacterias lácticas incrementaron su valor a 9 log UFC/ml y levaduras de 5.5 log UFC/ml, utilizando en su formulación 100% de leche de soya y granos de kéfir. La temperatura de fermentación de todo el proceso fue de 20°C, con un ambiente microaerófilo.

## CAPÍTULO II

### 2 MARCO METODOLÓGICO

#### 2.1 Localización y duración del experimento

El presente trabajo de investigación se desarrolló en los siguientes laboratorios de bromatología, ciencias biológicas y procesamiento de alimentos, pertenecientes a la Facultad de Ciencia Pecuarias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, ubicada en la Av. Panamericana Sur km 1 ½, en la ciudad de Riobamba. La duración del trabajo tuvo un tiempo aproximado de 60 días laborables, en el cual se realizó análisis bromatológicos, fisicoquímicos y microbiológicos.

#### 2.2 Unidades experimentales

Para el desarrollo de la presente investigación, se utilizó 1000ml de extracto soluble de soya y extracto soluble de soya kéfirada como unidad experimental. Para determinar el comportamiento simbiótico, se utilizó 250 ml de muestra por repetición.

#### 2.3 Materiales, equipos e insumos

Los materiales, equipos e insumos que se utilizaron en el presente trabajo de investigación fueron:

##### 2.3.1 *Materiales*

- Frasco de vidrio de boca ancha
- Frascos de vidrio termorresistentes
- Gasas
- Gomas elásticas
- Tela negra
- Plástico de soporte inclinado
- Paños absorbentes
- Jarro medidor
- Cernidor
- Paletas de silicona

- Recipientes de plástico
- Ollas
- Pinza
- Cuchillos
- Goteros

### **2.3.2 Equipos**

- Balanza
- Refrigerador
- Licuadora
- Cocina
- Termómetro de alimentos
- Incubadora

### **2.3.3 Insumos**

- Granos de kéfir de leche
- Leche de vaca
- Granos secos de soya
- Agua destilada.
- Agua potable.
- Hipoclorito de sodio para desinfección de alimentos.

## **2.4 Tratamientos y diseño experimental**

En el presente trabajo de investigación, no se realizó tratamientos ya que la metodología utilizada será por investigación experimental en estadística descriptiva.

## **2.5 Mediciones experimentales**

Las mediciones experimentales que se realizó en la presente investigación son los siguientes:

### **2.5.1 *Análisis bromatológico del extracto soluble del germinado de soya (Glycine max).***

- Azúcares, % (Norma Cubana NC-708:2009).
- Grasas, % (Norma INEN 12:1973)
- Proteínas, % (Norma AOAC 976.05)

### **2.5.2 *Análisis fisicoquímico del extracto soluble del germinado de soya (Glycine max).***

- PH (Norma AOAC 981.12:1982)
- Acidez, % (Norma INEN 13:1984)

### **2.5.3 *Población de Bacterias Ácido Lácticas, Acéticas y levaduras a partir del inóculo inicial en diferentes tiempos (0, 24 ,48 ,72 y 96 horas).***

- Recuento de Bacterias Ácido-Lácticas UFC/g (Norma INEN 1539-1: 2013)
- Recuento de Bacterias Acéticas UFC/g (Norma INEN 1529-5:2006)
- Recuento de levaduras UFC/g (Norma INEN 1529-10: 2013)

### **2.5.4 *Actividad simbiótica de Bacterias Ácido Lácticas, Acéticas y levaduras.***

- Bacterias Ácido-Lácticas UFC/g (Norma INEN 1539-1: 2013)
- Recuento de Bacterias Acéticas UFC/g (Norma INEN 1529-5:2006)
- Recuento de levaduras UFC/g (Norma INEN 1529-10: 2013)

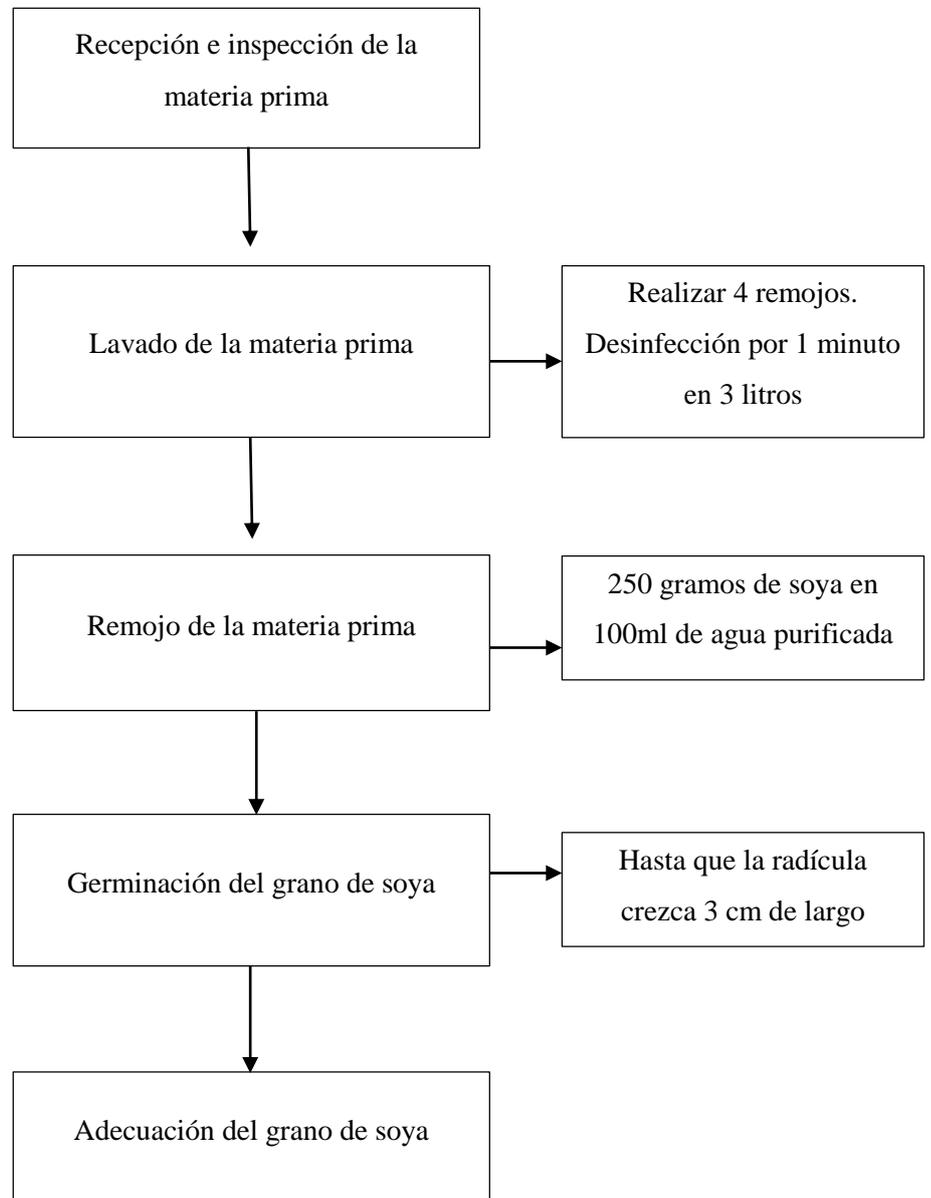
## **2.6 *Análisis estadísticos y pruebas de significancia***

Con los resultados experimentales obtenidos en la presente investigación se aplicó técnicas descriptivas, no se contó con pruebas de significancia por el método empleado.

- Medidas de tendencia central (media, moda y mediana)
- Medidas de dispersión (desviación estándar)

## 2.7 Procedimiento experimental

### 2.7.1 Germinado de los granos de soya



**Figura 2-2.** Germinación del grano de soya.

**Realizado por:** Chávez Diaz, Andrea 2023

#### 2.7.1.1 *Recepción e inspección de la materia prima*

Se utilizó la metodología casera empleada por Racines, (2011). Los granos de soya provienen de Camari (Sistema solidario de Comercialización del FEPP), que promociona productos orgánicos e inocuos. Se retiró ramas y piedras, procurando limpiar en seco cualquier contaminante físico que pueda perjudicar la calidad del producto, es necesario que el grano presente un color uniforme, en este caso amarillo (depende de la variedad el color del grano)

#### 2.7.1.2 *Lavado de la materia prima*

Se procedió a lavar la materia prima con agua potable, hasta que el agua no tuvo turbulencia aproximadamente cuatro lavados, después, se mantiene por 1 minutos sumergido en 3 litros de agua con 150ppm de cloro. Es importante no ejercer presión entre los granos.

#### 2.7.1.3 *Remojo de la materia prima*

En un frasco de vidrio, se colocó 250 gramos de granos de soya en 100 ml de agua purificada, tapar el frasco de cristal con una gasa sujeta con una liga elástica, se dejó por 24 hora en un lugar oscuro y seco, con la finalidad de que se hinche el grano. Pasado este tiempo se seleccionó los granos que presenten defectos físicos.

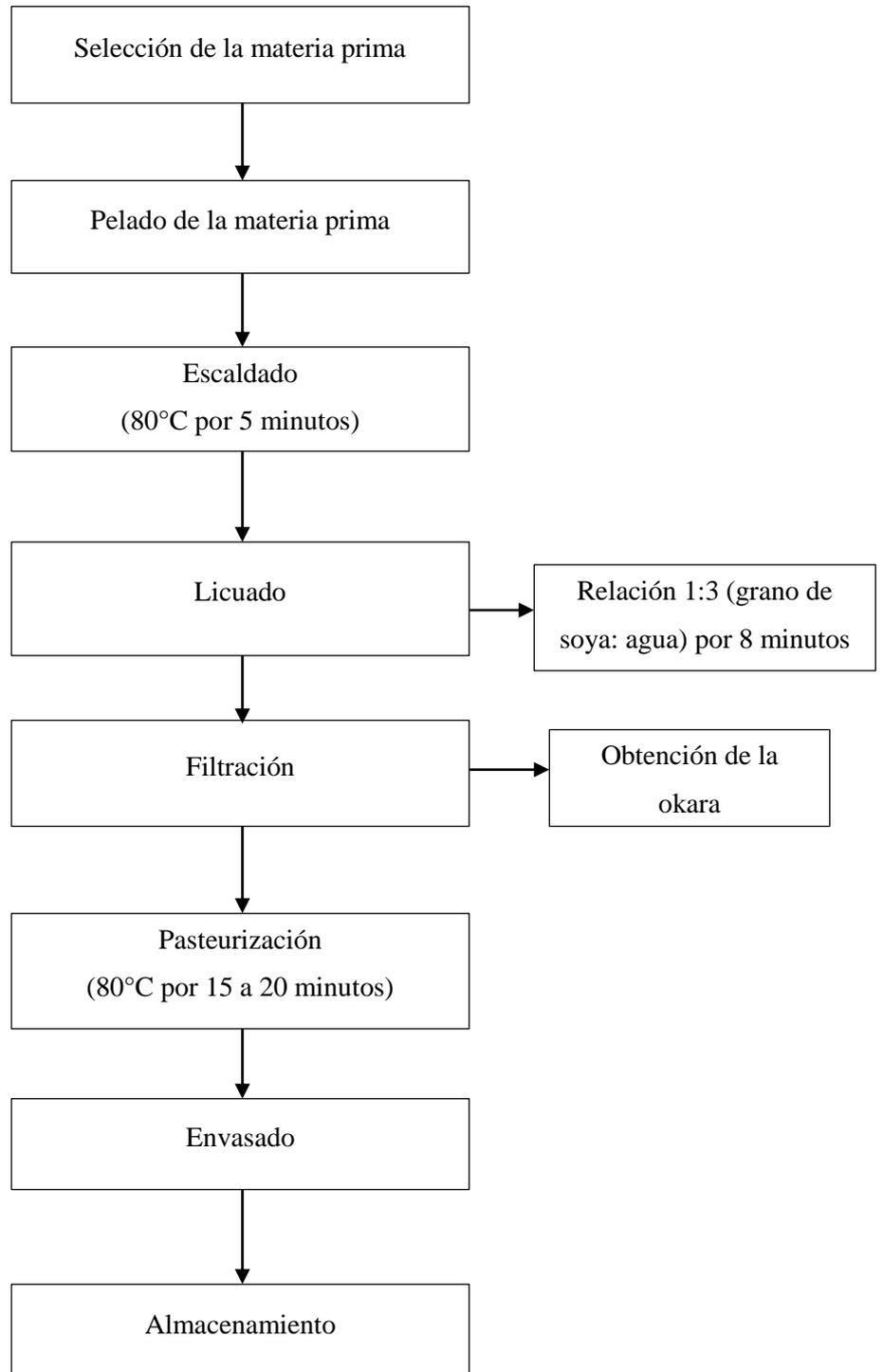
#### 2.7.1.4 *Germinado de soya*

En un frasco de vidrio de tapa ancha, se colocó los granos hinchados de soya y se dejó remojar con 30 ml de agua purificada por 1 minuto, luego se escurrió bien para evitar que la humedad afecte al grano. En un soporte de plástico inclinado se añadió el frasco de cristal cerrado con una gasa y liga de plástico, se tendió los granos de soya de manera uniforme. Se cubrió el frasco con una tela negra para evitar el contacto con la luz, se dejó en un ambiente fresco y seco. Se repitió el proceso 4 veces al día como mínimo por 3 a 4 días, hasta que se obtuvo el germinado de 3 cm de largo.

#### 2.7.1.5 *Adecuación del grano de soya*

Una vez obtenido el germinado de soya, se debe exponer a luz directa por 2 horas con la finalidad de formar la clorofila y favorecer el incremento de vitamina C.

### 2.7.2 *Elaboración del extracto soluble de soya germinada (bebida de soya germinada)*



**Figura 3-2.** Elaboración del extracto soluble germinado

Realizado por: Chávez Díaz, Andrea 2023

#### 2.7.2.1 *Selección de la materia prima*

Se utilizó la metodología empleada por Fúquene & Arenas, (2018). Se verifico que los granos germinados presenten una consistencia y un color uniforme.

#### 2.7.2.2 *Pelado de la materia prima*

Se realizó un pelado manual, eliminando la cubierta y separando los cotiledones. No se extrajo la radícula.

#### 2.7.2.3 *Escaldado*

Se calentó 50 ml de agua hasta que alcance una temperatura de 80°C, se introdujo los granos de soya por 5 minutos, se movió cuidadosamente.

#### 2.7.2.4 *Licuada*

Posteriormente, los granos de soya fueron licuados con agua a una temperatura de 80°C, en una relación de 1:3 (grano de soya: agua) con una duración aproximada de 8 minutos hasta obtener el líquido lechoso.

#### 2.7.2.5 *Filtración*

Previo a la filtración se calentó la bebida por 2 minutos con la finalidad de mejorar la extracción de proteína y tripsina que aporta el sabor afrijolado a la soya. En un cernidor de poro pequeño se efectuó la extracción del líquido y separación de sólidos (okara).

#### 2.7.2.6 *Pasteurización*

Se calentó el líquido lechoso a una temperatura de 80°C por 15 a 20 minutos para asegurar un producto inocuo e inactivar enzimas.

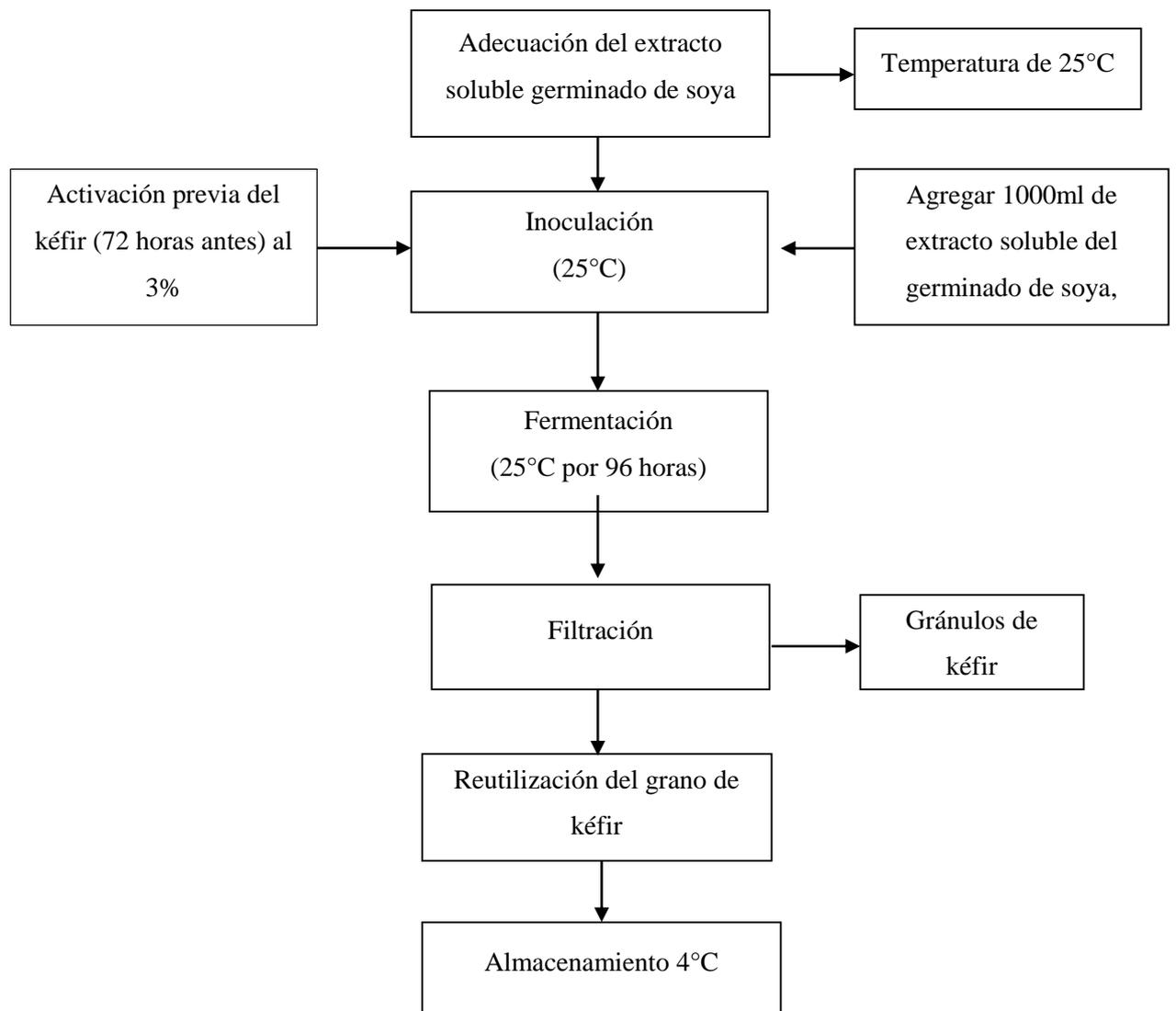
#### 2.7.2.7 *Envasado*

En un recipiente de vidrio previamente esterilizado se añadió el extracto de soya germinado en caliente, se dejó enfriar hasta que se encuentre a temperatura ambiente.

#### 2.7.2.8 Almacenamiento

Se colocó a refrigeración, la vida útil del producto sin conservantes es de 8 a 12 días aproximadamente. A este producto se lo utilizó para el análisis fisicoquímico y bromatológico.

#### 2.7.3 Elaboración del extracto soluble germinado de soya con kéfir (bebida de soya kéfirada)



**Figura 4-2.** Extracto soluble de soya kéfirado.

Realizado por: Chávez Diaz, Andrea 2023

#### 2.7.3.1 *Adecuación del extracto soluble del germinado de soya.*

La bebida se encontraba en refrigeración a 4°C, se realizó una adecuación de temperatura mediante calor a la bebida con una estufa hasta alcanzar una temperatura de 25°C.

#### 2.7.3.2 *Inoculación del grano de kéfir con el extracto soluble de soya germinada.*

Para la activación de la bebida de soya con gránulos de kéfir se utilizó la metodología empleada por Abdolmaleki et al.,(2015). En un recipiente de vidrio se añadió 3% de gránulos kéfir, el cual se inoculó en 1000ml de extracto soluble de soya germinado a 25°C o temperatura ambiente, se mantuvo en un lugar fresco, alejado de la luz directa, se tapó con gasas para crear un ambiente microaerofílico.

- **Activación del kéfir de leche**

Para la activación del kéfir de leche, se siguió la metodología de Montero, (2021) mediante el método artesanal, por el cual, se alimentó cada 24 horas, dos días antes con gránulos de kéfir inoculado y leche pasteurizada de vaca, para que se encuentre activado al colocarlo en el nuevo sustrato. La formulación es 3% de granos de kéfir en 1000ml de leche de vaca.

#### 2.7.3.3 *Fermentación*

Se mantuvo la temperatura a 25°C durante todo el proceso por 96 horas, que dura el presente estudio. Para los análisis se preparó 4 muestras con la misma formulación, con la finalidad de no alterar los resultados por la excesiva manipulación de la bebida. Rotular las muestras con 24, 48, 72 y 96 horas.

#### 2.7.3.4 *Filtración*

Después del estudio, se procedió a colar en un filtro de poro pequeño y se extrajo el extracto soluble de soya germinada kéfirada.

#### 2.7.3.5 *Reutilización del grano de kéfir*

El grano de kéfir para su activación y bienestar se lo inoculó con leche animal.

### 2.7.3.6 Almacenamiento

Se dejó la leche kéfirada en refrigeración a una temperatura de 4°C para alentar su fermentación hasta posteriores usos.

## 2.8 Metodología de evaluación

### 2.8.1 Análisis bromatológico

#### 2.8.1.1 Determinación de Azúcares

##### 2.8.1.1.1 Determinación de Azúcares Totales

Para la obtención de azúcares totales se realizó el análisis proximal del Extracto soluble de soya germinado, mediante la determinación del Extracto Libre No Nitrogenado. Por lo cual, se necesitó de los siguientes análisis.

- **Análisis de Humedad NTE INEN 518:** Método de desecación en estufa de aire caliente
- **Análisis de Cenizas NTE INEN 520:** Método de incineración en mufla
- **Análisis de Fibra Cruda NTE INEN 522:** Método Gravimétrico
- **Análisis de Grasa o Extracto Etéreo NTE INEN 12**
- **Análisis de Proteína Cruda AOAC 976.05**

### Cálculos

$$ELN = 100 - \Sigma (\%H + \%C + \%F + \%EE + \%P)$$

#### 2.8.1.1.2 Determinación de Azúcares Fermentables

Para el presente análisis se emplea la Norma Cubana NC-708, (2009) en el cual, se empleó el método DNS aplicando ácido 3,5-dinitrosalicílico, presenta una reacción mediante el calor con los azúcares reductores, reduciendo el ácido a 3-amino-5 nitrosalicílico, generó un cambio de color en la muestra, un color amarillo-café.

## **Materiales y equipos**

- Vaso de precipitación
- Balón de aforo
- Tubos de ensayo
- Tapas roscas
- Papel aluminio
- Hielo
- Agitador magnético
- Espectrofotómetro
- Termómetro
- Balanza

## **Reactivos**

- Sacarosa
- Hidróxido de sodio (NaOH)
- Tartrato de Na-K
- Ácido 3,5-dinitrosalicílico
- Agua destilada
- Muestra

## **Procedimiento**

### ✓ **Preparación del reactivo DNS**

Agregar 1.6 g de Hidróxido de sodio en un vaso de precipitación con 50 ml de agua destilada (disolver completamente) después, se colocó lentamente 43.8 g de tartrato de Na-K y se usó un agitador magnético para disolver completamente y añadir 1 g de ácido 3.5-dinitrosalicílico, con papel aluminio envolver el vaso con la finalidad de proteger al reactivo de la luz.

En un balón de 100ml aforar la solución con agua destilada, esta solución colocar en un frasco ámbar y dejar en agitación de 10 a 12 horas.

### ✓ **Preparación de las soluciones patrón de sacarosa para la curva de calibración**

Se preparo la solución patrón de sacarosa con las siguientes concentraciones: 0; 0.0125; 0.175; 0.025; 0.0375; 0.0425 y 0.05g de sacarosa, la cual, cada una se afora en un balón de 0.25ml con agua destilada. En tubos de ensayo se añadió 0.25 ml de cada solución patrón y 0.25 ml del reactivo DNS, colocar la tapa rosca e inmediatamente cubrir con papel aluminio para proteger de la luz.

En un vaso de precipitación calentar agua y agregar los tubos de ensayo hasta que alcance los 92°C por 5 minutos. Para detener la reacción, en un vaso de precipitación colocar agua con hielo

y agregar los tubos de ensayo por 5 minutos, después, se añadió 2.5ml de agua destilada en cada tubo, se agita y se realiza la lectura en el espectrofotómetro de absorbancia a 540nm.

✓ **Determinación de la concentración de azúcares reductores en las muestras**

En diferentes tubos de ensayo se colocó 0.25 ml de muestra y 0.25 ml de reactivo DNS, se tapa con tapa rosca y se cubre con papel aluminio para proteger de la luz. En un vaso de precipitación calentar agua y agregar los tubos de ensayo hasta que alcance los 92°C por 5 minutos. Para detener la reacción en un vaso de precipitación colocar agua con hielo y agregar los tubos de ensayo por 5 minutos, después, se añadió 2.5ml de agua destilada en cada tubo, se agito y se realizó la lectura en el espectrofotómetro de absorbancia a 540nm.

Se debe realizó una regresión lineal a la curva de calibración y se despeja la variable concentración en función de la absorbancia medida, reemplazar los datos obtenidos.

2.8.1.2 *Determinación de Grasa*

El análisis de grasa se lo realizó por el método Gerber, según la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 12, 1973. Mediante acidificación y centrifugación se separó la materia grasa contenida en el extracto soluble germinado de soya, en lectura directa del butirómetro.

**Materiales y equipos**

- Pipeta aforada de 10 cm<sup>3</sup>
- Pipeta aforada de 1 cm<sup>3</sup>
- Vaso de precipitación
- Parrillas eléctricas
- Termómetro
- Balanza
- Butirómetro de Gerber
- Centrifuga

**Reactivos**

- Ácido sulfúrico
- Alcohol amílico
- Agua destilada
- Agua purificada

## **Procedimiento**

Se obtuvo 11 ml de peso de la muestra, no debe presentar grumos o espesor, si tiene esta condición es necesario aplicar Baño María de 30-35°C. Se lo vertió en el butirómetro con cuidado de no tocar las paredes.

Con la pipeta, obtener 10 ml de ácido sulfúrico y verter en el butirómetro, sin humedecer el cuello con el ácido. Con otra pipeta, se obtuvo 1 ml de alcohol amílico y se vertió en el butirómetro con cuidado de no humedecer el cuello del butirómetro, enseguida, tapar herméticamente y agitar lentamente invirtiendo tres veces hasta que desaparezca particular blancas del butirómetro.

Inmediatamente llevar a centrifugar, para lo cual se colocó el butirómetro con la tapa hacia afuera, debe estar equilibrado los volúmenes en el aparato (analizar dos muestras a la vez) por aproximadamente 5 minutos. Calentar a Baño María a 65°C por 10 minutos, manteniendo la columna de grasa completamente sumergida en agua.

Se colocó el nivel de separación entre el ácido y la columna de grasa sobre la marca de una graduación principal, mediante el aflojado adecuado de la tapa del butirómetro. Se leyó las medidas correspondientes a la parte inferior del menisco de grasa al nivel de separación entre el ácido y la columna de grasa para tomar la lectura, se mantuvo la escala en posición vertical y el punto de lectura al mismo nivel de los ojos. La lectura del menisco debe aproximarse a 0.05%

Repetir la centrifugación por 5 minutos y se calentó a Baño María a 65°C por 10 minutos, manteniendo la columna de grasa completamente sumergida en agua. Esta lectura no debe diferir de la primera. El butirómetro debe lavarse de manera exhaustiva.

### *2.8.1.3 Determinación de Proteínas*

Para el siguiente análisis, se empleó la norma AOAC 976.05, mediante el método de Kjeldahl para determinar la proteína en el extracto soluble germinado de soya.

#### **Materiales y equipos**

- Aparato de Kjeldahl
- Balón de digestión Kjeldahl

#### **Reactivos**

- Sulfato de cobre
- Sulfato de sodio

- Pipetas
- Balanza analítica
- Bureta
- Vaso de precipitación
- Indicador mixto rojo y verde de bromocresol
- Titulador
- Papel bond
- Ácido sulfúrico
- Granallas de zinc
- Ácido bórico
- Agua destilada
- Ácido clorhídrico 1N

### **Procedimiento**

Pesar 3 gramos de muestra líquida e introducirla en un balón de digestión Kjeldahl. Añadir en una hoja en blanco tamaño A7, colocar 1 g de sulfato de cobre y 9 g de sulfato de sodio, mezclar bien y envolver. Colocar con cuidado dentro del balón de digestión.

Agregar con cuidado 25 ml de ácido sulfúrico concentrado p.a. procurando no manchar las paredes del balón. Colocar el balón en el digestor y calentar hasta obtener un líquido verde esmeralda, aproximadamente 40 minutos.

Se dejó enfriar el balón y su contenido, adicionar 200ml de agua destilada para disolver el contenido, agregar 1 gramo de granallas de zinc y 100 ml de NaOH al balón de destilación. En un vaso de 500 ml, se colocó 2.5 g de ácido bórico y se disolvió bien en 100 ml de agua destilada, además, agregar 2 gotas de indicador. Se sumergió el tubo de salida del destilador en este vaso que contiene los reactivos, destilar hasta recolectar 100ml de destilado.

Titular el destilado con HCl al 1N, dejar caer gota a gota, se agita la solución hasta que la solución cambie al color rosado, leer el volumen gastado y realizar los cálculos respectivos. La determinación debe hacerse por duplicado.

### **Cálculos**

$$\%PB = \frac{(N1 * V * F * 0.014)}{m} * 100$$

En donde:

%PB=contenido de proteína en porcentaje de masa

F=factor para transformar en %N<sub>2</sub> en proteína, y que es específico para cada alimento.

V=volumen de HCL empleado para titular la muestra en MI

N<sub>1</sub>=normalidad de HCL

m=masa de la muestra analizada

## **2.8.2 Análisis Físico-químicos**

### **2.8.2.1 Determinación de PH**

El siguiente análisis permitió determinar la concentración de iones de hidrogeno presentes en una solución, va desde el nivel de acidez, neutralidad o alcalinidad, en una escala de 0 a 14, como punto máximo de valoración. Para el análisis se realizó mediante el método AOAC 981.12

#### **Materiales y equipos**

Potenciómetros con sus electrodos

Vasos de precipitación

Agitador magnético

#### **Reactivos**

Solución buffer, de pH 7.00

Agua destilada

#### **Procedimiento**

Encender el instrumento y dejar que los componentes se estabilicen, estandarizarlo. Homogenizar con un agitador la muestra de extracto soluble germinado de soya a temperatura ambiente, colocar en 15 ml en un vaso de precipitación.

Realizar una calibración de los electrodos del potenciómetro inmerso en una solución de pH 7 a una temperatura de 25°C. Sumerja las puntas de los electrodos en la muestra, esperar 1 minuto hasta estabilizar el equipo, tome la lectura y anote. Se determino dos valores de pH en cada muestra de prueba, las lecturas similares indican que la prueba es homogénea. Informe los valores con 2 decimales. Lavar los electrodos con agua destilada y secar. Realizar el mismo proceso con las demás muestras.

### 2.8.2.2 *Determinación de Acidez*

Para el análisis de la acidez titulable del extracto soluble de soya, se utilizó la norma INEN 13, 1984.

#### **Materiales y equipos**

- Vasos de precipitación
- Bureta
- Brazo de titulación
- Matraz de Erlenmeyer
- Pipetas

#### **Reactivos**

- Indicador de fenolftaleína al 1%
- Hidróxido de sodio 0,1N

#### **Procedimiento**

Se obtiene 10 ml de muestra mediante una pipeta, se la colocó en el matraz. Agregar 3 gotas de indicador en cada muestra a analizar.

Se procedió a titular con hidróxido de sodio al 0.1 N, dejando caer gota a gota hasta obtener un color rosa. Una vez obtenido el valor gastado de la titulación se realizó los cálculos.

#### **Cálculos**

$$\%A = \frac{0.090 * V * N}{V2} * 100$$

Donde:

A=Acidez expresada en % ácido láctico

V=Volumen en ml de NaOH gastados

0.09=Equivalente del ácido láctico

V2= Volumen diluido

### 2.8.3 *Recuento Microbiológico.*

Se realizó el conteo de bacterias ácido lácticas, acéticas y levaduras a partir del inóculo inicial (gránulos de kéfir inoculado con Extracto Soluble de Soya Germinada) en diferentes tiempos 0, 24, 48, 72 y 96 horas, se realizó mediante la norma NTE INEN 1539-1:2013. Para las análisis a

las 0 horas se utilizó el extracto soluble de soya germinado recién inoculado con los granos de kéfir de leche, se dejó un tiempo de adaptación de 2.5 horas.

#### 2.8.3.1 *Determinación de Bacterias Ácido-Lácticas*

Para el análisis microbiológico se utilizó la Norma INEN 1539-1: 2013, se realizó el siguiente procedimiento:

- Preparar el agar Man Rogosa Sharpe (MRS), se sacó la relación en base al fabricante 70g en 1000ml de agua destilada en un frasco termorresistente, calentar y homogenizar. Esterilizar todos los materiales, equipos y agares utilizados, en autoclave por 40 minutos.
- Colocar, 9 ml de agar en cada caja Petri, procurando rotular la muestra. En 6 tubos de ensayo añadir 9 ml de agua destilada y disolver con 1 ml de muestra en relación  $10^{-3}$  (extracto soluble de soya germinado kéfirada). Inocular 1 ml de dilución  $10^{-3}$  en caldo MRS, sembrar por el método de estrías, agregando uniformemente la muestra por toda la caja Petri.
- Envolver con plástico las cajas Petri evitando el ingreso de oxígeno e incubar en un desecador libre de oxígeno a una temperatura de  $37^{\circ}\text{C}$  por 24 horas. Realizar el conteo las unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo en las cajas Petri.

#### 2.8.3.2 *Determinación de Bacterias Acéticas*

- Se utilizó la Norma INEN 1529-5:2006 preparar el agar Acetic, sacar la relación en base al fabricante 38 g en 1000ml de agua destilada en un frasco termorresistente, calentar y homogenizar. Esterilizar todos los materiales, equipos y agar a utilizar, en autoclave por 40 minutos.
- Colocar, 9 ml de agar en cada caja Petri, se procuró rotular la muestra. En 6 tubos de ensayo con 9 ml de agua destilada y disolver con 1 ml de muestra (extracto soluble de soya germinado kéfirada). Inocular 1 ml de dilución  $10^{-3}$  en caldo Acetic, sembrar por el método de estrías, se agregó uniformemente la muestra con un asa de cultivo por toda la caja Petri.
- Incubar a una temperatura de  $30^{\circ}\text{C}$  por 14 a 48 horas. Realizar el conteo las unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo en las cajas Petri.

### 2.8.3.3 *Determinación de Levaduras*

- Se utilizó la Norma INEN 1529-10: 2013, utilizando el Agar Papa Dextrosa (PDA), se sacó la relación en base al fabricante 39 g en 1000ml de agua destilada en un frasco termorresistente, calentar y homogenizar. Esterilizar todos los materiales, equipos y agar a utilizar, en autoclave por 40 minutos.
- Colocar, 9 ml de agar en cada caja Petri, procurando rotular la muestra. En 6 tubos de ensayo colocar 9 ml de agua destilada y disolver con 1 ml de muestra. Inocular 1 ml de dilución  $10^{-3}$  en caldo PDA, sembrar por el método de estrías, se agregó uniformemente la muestra con asa de cultivos por toda la caja Petri. Incubar a una temperatura de 30-35°C por 48 horas. Realizar el conteo las unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo en las cajas Petri.

### 2.8.4 *Actividad simbiótica*

Para conocer la actividad simbiótica, se inoculó los gránulos de kéfir de leche en el extracto soluble de soya germinado, se realizó una siembra de Bacterias Ácido-Lácticas, Acéticas y levaduras en diferentes tiempos (0, 24, 48, 72 y 96 horas) para realizar un conteo de las Unidades Formadoras de Colonias por gramo de muestra. Se realizó una tabla en conjunto de los datos obtenidos.

## CAPITULO III

### 3 MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

#### 3.1 Análisis de las características bromatológicas

Los resultados obtenidos de los análisis bromatológicos realizados al extracto soluble de soya germinado se muestran en la tabla 1-3.

**Tabla 1-3.** Análisis bromatológico del Extracto Soluble de Soya Germinada.

Componentes	Mediana	Moda	Media	D.E
<b>Azúcares Totales (%)</b>	5,64	-	<b>5,57</b>	± 0,32
Azúcares Fermentables (g/L)	3,36	-	<b>3,37</b>	± 0,02
<b>Grasa (%)</b>	1,4	-	<b>1,40</b>	± 0,02
<b>Proteína (%)<sup>(1)</sup></b>	6,66	-	<b>6,66</b>	± 0,23

Realizado por: Chávez Díaz, Andrea, 2023.

\*D. E: Desviación Estándar

<sup>(1)</sup> Factor de conversión N<sub>2</sub>=6.25

#### 3.1.1 Contenido de Azúcares del Extracto Soluble de Soya Germinado.

Para determinar el contenido de azúcares en el extracto soluble de soya germinada se analizó el contenido de azúcares totales y azúcares fermentables presentes en el estudio, reportando valores de  $5,57 \pm 0,32\%$  de carbohidratos totales y  $3,37 \pm 0,02\text{g/L}$  de azúcares reductores en sacarosa, presentando con una diferencia de 2,20% como se puede apreciar en la tabla 1-3. De acuerdo con (Oyedeji, 2018) en su investigación: “Mejora de algunos atributos de calidad de la leche de soja a través de la optimización de parámetros seleccionados de germinación de soja utilizando la metodología de superficie de respuesta” dice que, la disminución del contenido de carbohidratos puede deberse a la pérdida de reserva de nutrientes del grano a lo largo del proceso de germinación para el crecimiento de cotiledones y descarga de energía para el desarrollo del brote.

Según (Ojha et al. 2014,p. 3) en su estudio: “Efecto de la germinación en las propiedades fisicoquímicas del tofu”; menciona que la leche de soya germinada presenta un contenido de 3.051% en comparación al no germinado de 3.141%, esta diferencia de valores en comparación al presente estudio puede deberse al poco tiempo empleado en la germinación de 12 horas, ya que los hidratos de carbono son usados como fuente de energía para el germen del grano mientras

que, (Kim, W. et al., 1986. p. 385) en la investigación: “Cambios en oligosacáridos a la calidad sensorial de la leche de soya durante la germinación”; infiere que el contenido de azúcares fermentables en sacarosa es de 2.9 g/L a los 3 días de germinación presenta un alto contenido en comparación a la rafinosa y estaquiosa, debido a la utilización de monosacáridos para el crecimiento metabólico y la degradación oligosacáridos a monosacáridos por efecto de la germinación.

De acuerdo con (Castro, J & Chía, L; 2020.p. 46), en su investigación: ‘Evaluación del aporte nutricional y riesgos para la salud asociados al consumo de germinados’, en germinados de frejol para los carbohidratos totales reporto valores cercanos a los de la presente investigación de 5,94 y 4,13 de azúcares reductores, contrario a los valores altos reportados por Champi & Taype, (2018) en el estudio “Efecto de tiempo de cocción y fermentación sobre la calidad de la bebida fermentada a base de maíz morado (*Zea Mays*) germinado de variedad Kculli” menciona que, para la bebida germinada de maíz morado se obtuvo valores de carbohidratos 10.70% y 3.708g/L de azúcares fermentables, este resultado se debe al alto contenido de carbohidratos presentes en el grano de maíz morado en comparación del grano de soya, en la germinación se consume azúcares sencillos como sacarosa, fructosa, maltosa y maltotriosa. Según (Jiang et al., 2013.p. 2), en su estudio: “Mejora de la calidad alimentaria de la leche de soja elaborada a partir de soja germinada a corto plazo”; explica que la reducción de los carbohidratos totales durante la germinación se debe a la disminución de carbohidratos simples, almidón y oligosacáridos de bajo peso molecular, los cuales se consumen de manera rápida en los procesos metabólicos durante la germinación.

Esto es justificado por (Castro, J & Chía, L; 2020.p. 46), quien menciona que durante el proceso de germinación ocurre una serie de procesos bioquímicos mediante los cuales por acción enzimática las moléculas más grandes se convierten en más simples, tal como los carbohidratos se convierten en azúcares simples, las proteínas en aminoácidos simples y las grasas en ácidos grasos, haciendo que estos nutrientes sean más fáciles de asimilar y digerir por el cuerpo al momento de ser consumidos.

### **3.1.2 *Contenido de Grasa del extracto soluble de soya germinada***

En relación con el contenido de grasa en el extracto soluble de soya germinada, se obtuvo una media de  $1,40 \pm 0,02\%$  como se muestra en la tabla 1-3, valor similar al presentado por (Jiang et al., 2013.p. 2) en la investigación: “Mejora de la calidad alimentaria de la leche de soja elaborada a partir de soja germinada a corto plazo”; obtuvo un valor de 1.33% de contenido de grasa, corroborado por (Murugkar, D., 2014. p. 6) en su estudio denominado "Efecto de la germinación de la

soja sobre la composición química y la calidad de la leche de soja y el tofu" con un contenido de 1,50% de lípidos.

De igual forma (Bansal, R & Kaur, M., 2015) en el trabajo de investigación: "Mejora de la calidad y evaluación sensorial de leche de soja preparada con soja germinada" presenta valores de grasa del extracto germinado de soja de 1.28% y de extracto de soja de 1.50%, esta diferencia de valores según (Murugkar, D., 2014. p. 6) se debe al agotamiento de los lípidos en las actividades catabólicas de la semilla durante el proceso de germinación, además, (Arenas, D.,2022.p.12) comenta que, aumenta la actividad enzimática lipídica lo que se traduce en la hidrólisis de las grasas en ácidos grasos y glicerol.

### **3.1.3 *Contenido de proteína del extracto soluble de soja germinado***

En la tabla 1-3 se puede observar que el extracto soluble de soja germinado presentó una media de  $6,66 \pm 0,23\%$  de proteína con un factor de conversión de 6.25, mientras que, (Murugkar, D., 2014. p. 1) en el estudio "Efecto de la germinación de la soja sobre la composición química y la calidad de la leche de soja y el tofu" se reporta valores menores de 4.1% de contenido de proteína en la leche de soja germinada, empleándose 2 días de germinación, según (Álvarez, 2012. p. 31) la diferencia de valores se atribuye al poco tiempo empleado en la germinación, evitando la correcta liberación de proteínas, el tiempo ideal de germinación es de 3 a 4 días en donde aumenta el contenido de nitrógeno soluble.

De la misma manera (Bansal, R & Kaur, M., 2015) en su investigación: "Mejora de la calidad y evaluación sensorial de leche de soja preparada con soja germinada" obtuvo valores de extracto germinado de 3.11% y extracto no germinado de 2.64%, el incremento de valores al comparar la soja sin germinar con la soja germinada según (Limón R., 2015. p. 35), establece que; durante este proceso, las proteínas son hidrolizadas a polipéptidos, péptidos y aminoácidos más fácilmente asimilables, como consecuencia de la activación de las enzimas proteolíticas. Por su parte, (Esquivel, I. & Cayro, S., 2018. p. 17) indica que, en general las sojas (extractos) con bajo contenido de grasa son altas en proteínas y viceversa, demostrándose así; lo antes mencionado, ya que el extracto soluble de soja obtenido en esta investigación tuvo un contenido bajo de grasa 1,40% y alto en proteína 6,66%.

### 3.2 Análisis de las características fisicoquímicas

Los análisis fisicoquímicos realizados en el extracto de soya germinada se muestran en la siguiente tabla.

**Tabla 2-3.** Análisis fisicoquímico del Extracto Soluble de Soya Germinada.

Componentes	Mediana	Moda	Media	D.E
PH	6,67	-	<b>6,67</b>	± 0,04
Acidez (%)	0,18	0,18	<b>0,17</b>	± 0,01

Realizado por: Chávez Díaz, Andrea, 2023.

\*D. E: Desviación Estándar

#### 3.2.1 Contenido de pH del extracto soluble de soya germinado

El pH obtenido en el extracto soluble de soya germinada fue de  $6,67 \pm 0,04$ ; valor que se encuentra cerca a lo reportado por (Jiang et al., 2013. p. 3) en su investigación "Mejora de la calidad alimentaria de la leche de soya elaborada a partir de soya germinada a corto plazo"; en donde obtuvo un valor de 6.51, según (Chavarría, M., 2010. pp. 15) el estudio "Determinación del tiempo de vida útil de la leche de soya mediante un estudio de tiempo real"; se considera al extracto soluble de soya germinado como un producto ligeramente ácido semejante a la leche animal.

De la misma manera, (Bansal, R & Kaur, M., 2015) en su trabajo: "Mejora de la calidad y evaluación sensorial de leche de soya preparada con soya germinada"; obteniendo un valor de pH de 6.85 en el extracto soluble de soya germinado y un pH de 7.05 en extractos solubles no germinados, reduciendo el pH con la germinación. Según (Rodríguez, L., & Miranda, E., 2018. p. 11) señala que, una de las enzimas más importantes en el proceso de germinación de las semillas de soya es la fitasa, que se activa durante el remojo, la cual es encargada de llevar a cabo la hidrólisis secuencial del ácido fítico.

#### 3.2.2 Contenido de Acidez del extracto soluble de soya germinado

Como se puede observar en la tabla 2-3, el contenido de acidez del extracto soluble de soya germinada reporta un valor de  $0,17 \pm 0,01$  en porcentaje de ácido láctico. Valor similar al presentado por (Valencia, 2018. p. 145) quien en su investigación; "Evaluación tecnológica de la germinación y clarificación de las bebidas tradicionales fermentadas y pasteurizadas de maíz morado (*Zea mays*) y quinua (*Chenopodium quinoa*) variedad inia 420 negra collana", presento un valor de 0,18% (expresado en ácido láctico) para la bebida de maíz morado germinado.

De la misma manera (Ccoyllo, 2019) en la publicación “Elaboración de una bebida energética gasificada a partir de maltas de quinua (*Chenopodium quinoa*), Kañihua (*Chenopodium pallidicaule*) y cebada (*Hordeum vulgare*)” reporta que la bebida energética gasificada elaborada con malta de quinua, kañihua y cebada presenta un valor de acidez de 0.19% (expresado en ácido cítrico). El resultado bajo de acidez del inóculo se explicarían debido al pH alto obtenido en el presente estudio, ya que existe una relación directa entre pH y acidez, lo cual se podría explicar parcialmente con los argumentos de (Boyer, 2015. p. 1) quien menciona que los alimentos de baja acidez tienen un pH mayor que 4,6 en general, los vegetales, leguminosas y carnes son alimentos de baja acidez.

### 3.3 Recuento microbiano a partir del inóculo inicial en diferentes tiempos (0, 24, 48, 72 y 96 horas)

Se realiza el recuento microbiano de bacterias ácido lácticas, ácido acéticas y levaduras a partir del inóculo inicial (extracto soluble de soya germinada y granos de kéfir de leche) en diferentes tiempos, los valores obtenidos se muestran a continuación.

#### 3.3.1 Recuento de Bacterias Ácido Lácticas

**Tabla 3-3.** Recuento de Bacterias Ácido Lácticas a partir del inóculo inicial en diferentes tiempos (0, 24, 48, 72 y 96 horas)

	Tiempo, horas.				
	0	24	48	72	96
Mediana	3,699X10 <sup>3</sup>	6,139 X10 <sup>3</sup>	5,406 X10 <sup>3</sup>	5,334 X10 <sup>3</sup>	4,638 X10 <sup>3</sup>
Moda	3,778X10 <sup>3</sup>	-	-	-	-
Desviación Estándar	± 3,176	± 5,131	± 3,833	± 4,178	± 3,398
<b>Media</b>	<b>3,677X10<sup>3</sup></b>	<b>6,139X10<sup>3</sup></b>	<b>5,405X10<sup>3</sup></b>	<b>5,339X10<sup>3</sup></b>	<b>4,636X10<sup>3</sup></b>

**Realizado por:** Chávez Díaz, Andrea, 2023.

En la tabla 3-3 se evidenció el recuento de bacterias ácido lácticas, donde en la hora 0 el inóculo presentó un conteo de  $3,677 \times 10^3 \pm 3,176$  log UFC/ml. Valores inferiores a los reportados (Baú et al., (2015) en el trabajo de investigación “Cambios en la leche de soya durante la fermentación con cultivos de kéfir: hidrólisis de oligosacáridos y producción de isoflavonas agliconas”; presentando un conteo de  $5.81 \times 10^1$  log UFC/ml, este valor se debe a que los gránulos de kéfir ya presentaban una adaptación al extracto soluble de soya por anteriores siembras en comparación a este estudio, posiblemente estas condiciones permitieron mejorar la producción en el recuento inicial de

bacterias lácticas, conteo similar al presentado por (Norberto et al., 2018) con un recuento inicial de  $7.5 \times 10^3$  log UFC/ml de bacterias lácticas, este valor se puede deber al uso de cultivos comerciales incorporados directamente en el extracto soluble de soya con una duración en la fase de inducción menor a las 2.5 horas, para adaptarse al sustrato (Baú et al., 2015), además (Gamba R., et al. 2020) dice que la población inicial de bacterias lácticas esta influenciado por la composición de las bacterias del grano inicial.

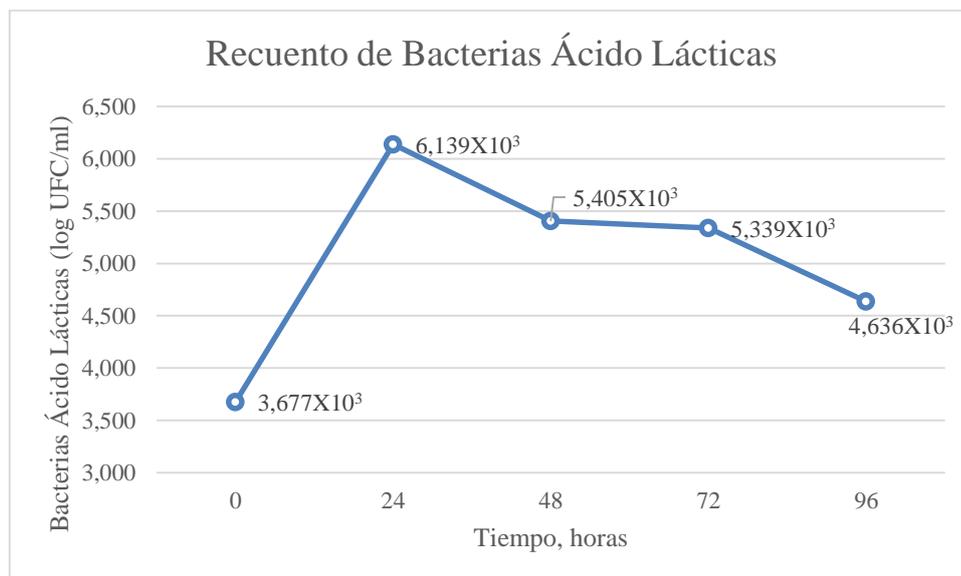
Posteriormente a las 24 horas se observó una fase de crecimiento logarítmico exponencial dónde se obtuvo  $6,139 \times 10^3 \pm 5,131$  log UFC/ml, contrario a los datos presentados por (Abdolmaleki et al., 2015. p.444 ) en su investigación; “Evaluación de bebidas elaboradas con leche, leche de soja y suero utilizando cultivo iniciador de kéfir iraní”, identifico un recuento de  $8 \times 10^3$  log UFC/ml, evidenciándose su crecimiento desde las 15 a 24 horas, a las 24 horas, los carbohidratos de la soya (sacarosa y rafinosa) se consumieron rápidamente por las bacterias ácido lácticas, influyendo directamente en su incremento poblacional.

El crecimiento microbiano entra a una fase estacionaria a partir de las 48 horas, con una media de  $5.405 \times 10^3 \pm 3,833$  log UFC/ml, valores bajos en comparación a los presentados por (Yugsi, 2022) en la investigación: “Evaluación de las propiedades físico-químicas, microbiológicas y sensoriales de kéfir elaborado con leche de almendra (*Prunus dulcis*) y de kéfir elaborado con leche de soya (*Glycine max*) “ dice que, las bacterias lácticas presentaran un valor de  $7.88 \times 10^3$  log UFC/ml, este valor es similar al presentado por (Abdolmaleki et al.,2015) con una cantidad de  $7.80 \times 10^1$  log UFC/ml, (Orozco, 2011) menciona que a partir de las 30 horas de fermentación empieza la fase estacionaria, justificándose por que las bacterias lácticas producen ácido láctico y ácido acético lentamente cuando se mezclan con levaduras, en comparación a las bacterias lácticas en leche fermentada.

A las 72 horas, se mantiene en fase estacionaria, presenta una reducción de colonias lácticas de  $5,339 \times 10^3 \pm 4,178$  log UFC/ml. Valores similares son reportados por (Fernández et al., 2017. p.22 ) en su investigación: “Evaluación del contenido de isoflavonas y fenoles totales en leche de soja fermentada con kéfir durante el almacenamiento y tras simulación in vitro del sistema digestivo”; donde presenta valores estimados de  $4 \times 10^3$  log UFC/ml, mencionando que a las 72 horas de fermentación se encuentra en fase estacionaria siendo esto razonable; ya que según (Suriasih et al., 2020. p. 136) indica que un alargamiento de periodos de incubación de 48 y 72 horas reduce significativamente los recuentos microbianos, debido a la disminución de pH del medio.

Sin embargo, a las 96 horas se evidencia un descenso de bacterias lácticas en el inoculo inicial como se muestra en el grafico 1-3, con un valor de  $4,636 \times 10^3 \pm 3,398$  log UFC/ml; contrario al recuento obtenido por (Fernández et al., 2017. p.22) en su investigación : “Evaluación del contenido de isoflavonas y fenoles totales en leche de soja fermentada con kéfir durante el almacenamiento y tras simulación in vitro del sistema digestivo” quien presento conteos bajos de  $3,9 \times 10^3$  log UFC/ml, obteniendo una relación inversamente proporcional donde; a mayor incremento del tiempo de reposo el contenido de bacterias ácido lácticas disminuye, lo cual se explica con los argumentos de (Fonseca, 2020. p. 546) quien menciona que a medida que transcurre el tiempo, el proceso de fermentación continua provocando cambios en las características de los alimentos, facilitando un pH más alto y una menor acidez; generando competencia y nuevas formas de adaptación entre las bacterias ácido lácticas, las cuales son microorganismos que requieren abundantes nutrientes para su crecimiento, generando competencia por nutrientes entre microorganismos sea una fuente de estrés para las Bacterias Acido lácticas (Norberto, et al., 2018. p. 1).

De otra manera, (Gamba et al., 2020. p. 7) en su investigación: “Caracterización química, microbiológica y funcional de Kéfir elaborado a partir de leche de vaca y leche de soja”, evidencio un recuento microbiano más alto de  $9,498 \times 10^1$  log UFC/ml, esto es justificable ya que se utilizó cultivos liofilizados mixtos los cuales aseguran la viabilidad microbiana, lo que hace que genere un mayor contenido de BAL en comparación al presente estudio.



**Gráfico 1-3.** Recuento de Bacterias Ácido Lácticas a las 0, 24, 48, 72 y 96 horas.

**Realizado por:** Chávez Díaz, Andrea, 2023.

### 3.3.2 Recuento de Bacterias Ácido Acéticas

**Tabla 4-3.** Recuento de Bacterias Acéticas a partir del inoculo inicial en diferentes tiempos (0, 24, 48, 72 y 96 horas)

	Tiempo (horas)				
	0	24	48	72	96
Mediana	3,602X10 <sup>3</sup>	6,022X10 <sup>3</sup>	6,325X10 <sup>3</sup>	5,784X10 <sup>3</sup>	5,259X10 <sup>3</sup>
Moda	3,602X10 <sup>3</sup>	-	-	-	-
Desviación Estándar	± 2,912	± 5,603	± 5,081	± 4,788	± 3,780
<b>Media</b>	<b>3,602X10<sup>3</sup></b>	<b>6,094X10<sup>3</sup></b>	<b>6,329X10<sup>3</sup></b>	<b>5,763X10<sup>3</sup></b>	<b>5,259X10<sup>3</sup></b>

**Realizado por:** Chávez Díaz, Andrea, 2023.

El resultado microbiológico de bacterias ácido acéticas analizadas en el extracto soluble de soya con kéfir se puede observar en la tabla 4-3, en donde a las 0 horas se obtuvo 3,602X10<sup>3</sup>±2,912 log UFC/ml, recuento menor a la reportado por (Fernandes, et al., 2017. p.22 ) ya que obtuvo 5,91X10<sup>3</sup> log UFC/m en su estudio “Evaluación del contenido de isoflavonas y fenoles totales en leche de soja fermentada con kéfir durante el almacenamiento y tras simulación in vitro del sistema digestivo”. Valor similar a la investigación realizada por (Baú, et al., 2015. p.3 ) en "Cambios en la leche de soya durante la fermentación con cultivo de kéfir: hidrólisis de oligosacáridos y producción de isoflavonas agliconas" reportó un conteo de 5,91X10<sup>1</sup> log UFC/ml de bacterias ácido acéticas, esto debido al que las dos investigaciones usaron cultivos liofilizados mixtos, los cuales aseguran la viabilidad microbiana. Esto se debe a lo que menciona (Gamba, R.,et al. 2020) que, la población inicial de las bacterias lácticas y acéticas están influenciados por el contenido de microorganismos de los gránulos iniciales.

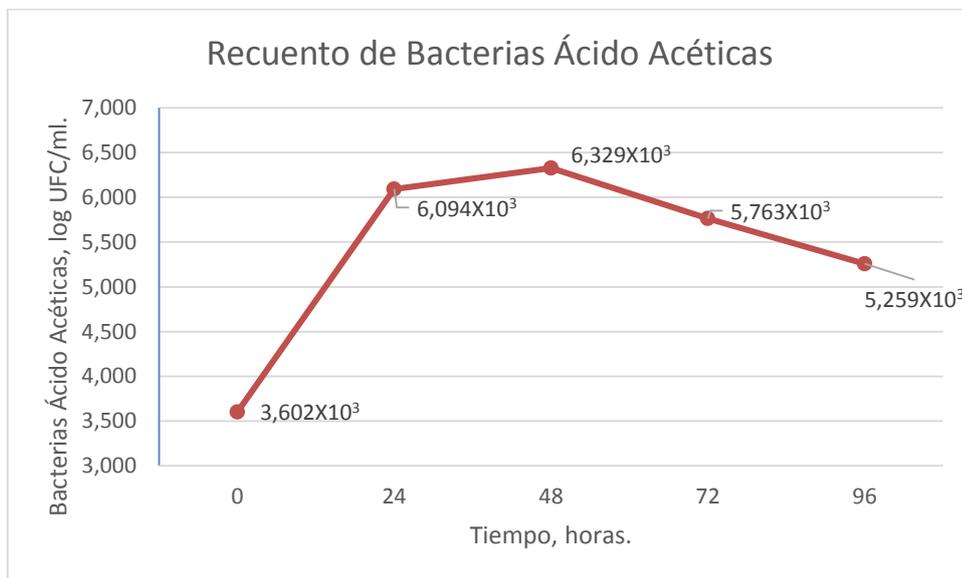
A las 24 horas, el inoculo inicial muestra un crecimiento logarítmico de bacterias ácido acéticas como se puede observar en el gráfico 2-3; reportando una media de población de 6,094X10<sup>3</sup> ±5,603 log UFC/ml, valor inferior a lo reportado por (Baú, et al., 2015. p. 3) donde obtuvo una población de 7,8X10<sup>1</sup> log UFC/ml en la “leche de soya” fermentada con kéfir, teniendo un crecimiento a partir de las 5 horas. Justificándose por (Gamba, R.,et al. 2020) quien menciona que, la concentración de azúcares en la leche de soya es baja, lo que limita el crecimiento de levaduras influyendo en el crecimiento adecuado de bacterias acéticas las cuales requieren de etanol generado por las levaduras.

En el gráfico 2-3, se evidencia que a las 48 horas las bacterias ácido acéticas tuvieron su mayor fase de crecimiento logarítmico exponencial en la fermentación del extracto soluble de soya con kéfir, con un conteo microbiano de 6,329X10<sup>3</sup> ±5,081 log UFC/ml, valor similar a lo reportado

por (Fernandes, et al., 2017 ) donde obtuvo  $5,8 \times 10^3$  log UFC/ml a las 48 horas de fermentación. Explicado por (Norberto, et al., 2018. p. 1) quien menciona que, a las 48 horas las levaduras se encargan de la producción de etanol, transformándose en ácido acético y glicerol por las bacterias acéticas.

A las 72 horas de fermentación según el gráfico 2-3, se demuestra una disminución de la población de bacterias acéticas con una media de  $5,763 \times 10^3 \pm 4,788$  log UFC/ml entrando a una fase estacionaria; esto debiéndose posiblemente a una mayor disminución del pH y consumo de sustrato, por lo que se ralentizan los procesos de actividad microbiana de las bacterias acéticas; ya que el pH óptimo de crecimiento de estas es de 5 y 6. Sin embargo, pueden crecer a pH menores a 5, pero la tolerancia a los bajos pH depende de otros parámetros, como la concentración de etanol y la disponibilidad de oxígeno. (Gerarld, L., 2015. p. 33)

Con respecto a las 96 horas, se puede apreciar en el gráfico 2-3 que las bacterias ácido acéticas se encuentran en una fase estacionaria, ya que existe una disminución de su población con un recuento de  $5,259 \times 10^3 \pm 3,780$  log UFC/ml, valores similares a lo obtenido por (Gamba, R., et al., 2020) con un recuento de  $4,983 \times 10^1$  log UFC/ml a las 96 horas en su estudio "Caracterización química, microbiológica y funcional del kéfir producido a partir de leche de vaca y leche de soja". Según (Baú, et al., 2015. p. 3) las limitaciones del crecimiento ocurren por acumulación de ácido y desgaste de azúcares presentes en el medio.



**Gráfico 2-3.** Recuento de Bacterias Acéticas a las 0, 24, 48, 72 y 96 horas.

**Realizado por:** Chávez Díaz, Andrea, 2023.

### 3.3.3 Recuento de Levaduras

**Tabla 5-3.** Recuento de levaduras a partir del inoculo inicial en diferentes tiempos (0, 24, 48, 72 y 96 horas)

	Tiempo (horas)				
	0	24	48	72	96
Mediana	5,227X10 <sup>3</sup>	5,622X10 <sup>3</sup>	6,250X10 <sup>3</sup>	5,744X10 <sup>3</sup>	5,410X10 <sup>3</sup>
Moda	-	-	-	-	-
Desviación Estándar	± 4,719	± 5,028	± 5,013	± 4,491	± 4,674
<b>Media</b>	<b>5,209X10<sup>3</sup></b>	<b>5,576X10<sup>3</sup></b>	<b>6,250X10<sup>3</sup></b>	<b>5,744X10<sup>3</sup></b>	<b>5,397X10<sup>3</sup></b>

**Realizado por:** Chávez Díaz, Andrea, 2023.

En la tabla 5-3 se muestran los resultados del recuento de levaduras a lo largo del tiempo en el extracto soluble de soya germinado con gránulos de kéfir. Donde a las 0 horas se reportó un valor de  $5,209 \times 10^3 \pm 4,719$  log UFC/ml; valores similares son reportados por (Norberto et al., 2018) quien presento un recuento microbiano de  $5,9 \times 10^3$  log UFC/ml en su trabajo “Impacto de la sustitución parcial y total de la leche por extracto de soja soluble en agua sobre los parámetros de fermentación y crecimiento de los microorganismos del kéfir”, los valores altos iniciales puede deberse al argumento de (Lui, J & Lin, C., 2000: p. 716) donde explica que, la microflora contenida en el grano de kéfir se transfiere a la leche de soya, dependiendo del microorganismo que se encuentre activo antes de la siembra, creciendo lentamente después de la inoculación en la leche de soya a comparación de la leche animal.

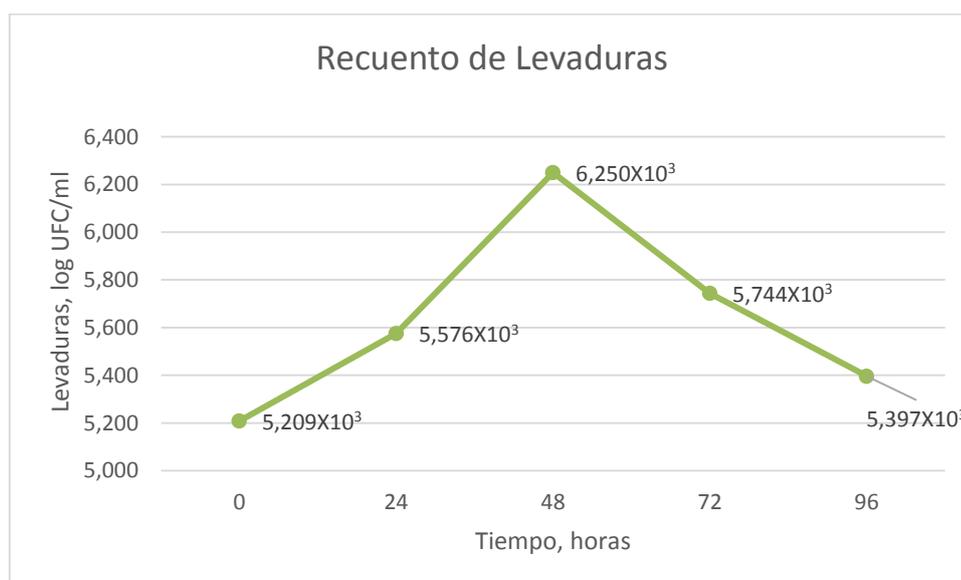
A las 24 horas, se identificó un leve crecimiento del microorganismo dado que este se está adaptando al medio llegando a un valor de  $5,576 \times 10^3 \pm 5,028$  log UFC/ml, valor similar al presentado por Gamba et al., (2020) en el estudio: "Caracterización química, microbiológica y funcional del kéfir producido a partir de leche de vaca y leche de soja"; con un conteo de  $5,021 \times 10^1$  log UFC/ml. Corroborado por (Je-Ruei & Chin-Wen, 2008) en la investigación: “Producción del kéfir a partir de leche de soya con o sin glucosa, lactosa ni sacarosa añadidas”; presentando un crecimiento de  $5,2 \times 10^3$  log UFC/ml. Justificado por (Grao, 2020) quien menciona que, a las 24 horas se evidencia un crecimiento elevado de bacterias lácticas disminuye el pH del medio por la producción de ácido láctico, lo que dificulta el desarrollo de las levaduras.

A partir de las 48 horas se empieza a desarrollar la fase exponencial de la levadura llegando a un valor de  $6,250 \times 10^3 \pm 5,013$  log UFC/ml, valor similar fue reportado por (Fernandes, et al., 2017) en “Evaluación del contenido de isoflavonas y fenoles totales en leche de soja fermentada con kéfir durante el almacenamiento y tras simulación in vitro del sistema digestivo” quien presento una

población de  $5,7 \times 10^3$  log UFC/ml. Esto se explica de acuerdo con lo mencionado por (De la Mano, 2021) quien afirma que las levaduras se benefician del medio acidificado que producen las bacterias, utilizan el ácido láctico producido las BAL como fuente de carbono (Grao, 2020).

Es así que transcurrido las 72 h de fermentación las levaduras entran en fase estacionaria, reportando un valor de  $5,774 \times 10^3 \pm 4,491$  log UFC/ml, valores similares a los reportados por (Fernandes, et al., 2017. p. 22 ) en su investigación “Evaluación del contenido de isoflavonas y fenoles totales en leche de soja fermentada con kéfir durante el almacenamiento y tras simulación in vitro del sistema digestivo” reportando un conteo de  $5,8 \times 10^3$  log UFC/ml. Esto sería argumentado por (Laureys & Vuyst, 2016. p. 1) quien menciona que el sustrato se encuentra abundante al inicio de la fermentación, pero a partir de las 48 horas la concentración disminuye rápidamente. Es así como después de 72 horas la mayoría de los carbohidratos se consumen, haciendo que disminuya la población microbiana.

A las 96 horas se evidencia una disminución más pronunciada de levaduras en el inoculo inicial con un valor de  $5,397 \times 10^3 \pm 4,674$  log UFC/ml, son similares a los presentados por (Gamba et al., 2020) en su investigación: “Caracterización química, microbiológica y funcional de Kéfir elaborado a partir de leche de vaca y leche de soja”, donde se evidencio un crecimiento débil de  $4,415 \times 10^1$  log UFC/ml. De acuerdo con (Yugsi, 2022. p. 57) un alargamiento de los períodos de incubación reduce significativamente los recuentos de levaduras en el kéfir debido a la caída del pH del medio ya que después de 72 horas la mayoría de los carbohidratos son consumidos.



**Gráfico 3-3.** Recuento de Levaduras a las 0, 24, 48, 72 y 96 horas.

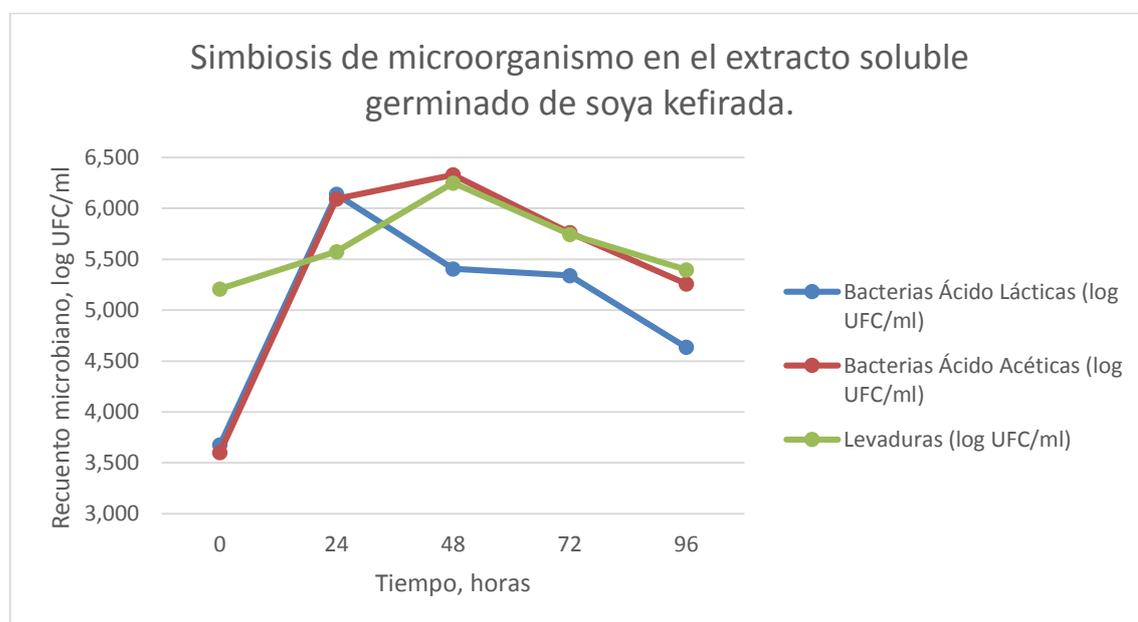
**Realizado por:** Chávez Díaz, Andrea, 2023.

### 3.3.4 Comportamiento simbiótico del Extracto Soluble de Soya Germinada con kéfir de leche.

**Tabla 6-3.** Comportamiento simbiótico del Extracto soluble de soya germinado inoculada con granos de kéfir en diferentes tiempos (0, 24, 48, 72 y 96 horas).

	Tiempo de Crecimiento Microbiano (Horas)					
	0	24	48	72	96	
<b>Bacterias Ácido Lácticas (log UFC/ml)</b>	Mediana	3,699X10 <sup>3</sup>	6,139X10 <sup>3</sup>	5,406X10 <sup>3</sup>	5,334X10 <sup>3</sup>	4,638X10 <sup>3</sup>
	Moda	3,778X10 <sup>3</sup>	-	-	-	-
	D. E	± 3,176	± 5,131	± 3,833	± 4,178	± 3,398
	<b>Media</b>	<b>3,677X10<sup>3</sup></b>	<b>6,139X10<sup>3</sup></b>	<b>5,405X10<sup>3</sup></b>	<b>5,339X10<sup>3</sup></b>	<b>4,636X10<sup>3</sup></b>
<b>Bacterias Ácido Acéticas (log UFC/ml)</b>	Mediana	3,602X10 <sup>3</sup>	6,022X10 <sup>3</sup>	6,325X10 <sup>3</sup>	5,784X10 <sup>3</sup>	5,259X10 <sup>3</sup>
	Moda	3,602X10 <sup>3</sup>	-	-	-	-
	D. E	± 2,912	± 5,603	± 5,081	± 4,788	± 3,780
	<b>Media</b>	<b>3,602X10<sup>3</sup></b>	<b>6,094X10<sup>3</sup></b>	<b>6,329X10<sup>3</sup></b>	<b>5,763X10<sup>3</sup></b>	<b>5,259X10<sup>3</sup></b>
<b>Levaduras (log UFC/ml)</b>	Mediana	5,227X10 <sup>3</sup>	5,622 X10 <sup>3</sup>	6,250X10 <sup>3</sup>	5,744X10 <sup>3</sup>	5,410X10 <sup>3</sup>
	Moda	-	-	-	-	-
	D. E	± 4,719	± 5,028	± 5,013	± 4,491	± 4,674
	<b>Media</b>	<b>5,209X10<sup>3</sup></b>	<b>5,576X10<sup>3</sup></b>	<b>6,250X10<sup>3</sup></b>	<b>5,744X10<sup>3</sup></b>	<b>5,397X10<sup>3</sup></b>

Realizado por: Chávez Díaz, Andrea, 2023.



**Gráfico 4-3.** Comportamiento simbiótico del Extracto soluble de soya germinado inoculada con granos de kéfir en diferentes tiempos.

Realizado por: Chávez Díaz, Andrea, 2023.

Los resultados obtenidos en la simbiosis a las 0 horas presento diferentes cantidades de poblaciones microbianas, para las bacterias ácido lácticas se reportó una población de  $3,677 \times 10^3 \pm 3,176$  log UFC/ml, para las bacterias acéticas un recuento de  $3,602 \times 10^3 \pm 2,912$  log UFC/ml y para las levaduras de  $5,209 \times 10^3 \pm 4,719$  log UFC/ml; presentando una población similar las bacterias lácticas y acéticas, mientras que las levaduras presentaron una mayor velocidad de crecimiento (Gráfico 4-3), justificándose por (Lui, J & Lin, C., 2000: p. 716) donde explica que, la microflora contenida en el grano de kéfir se transfiere a la leche de soya, dependiendo del microorganismo que se encuentre activo antes de la siembra además, el extracto soluble de soya germinada inoculado con kéfir al inicio tiene un pH bajo de 6.67 siendo óptimo para su desarrollo, y según (Contreras, R., 2014. p. 2) las levaduras crecen en un ambiente con un pH ligeramente ácido. Así mismo, estos valores son diferentes a los mencionados por (Baú, et al., 2015. p.3) en la investigación “Cambios en la leche de soya durante la fermentación con cultivos de kéfir: hidrólisis de oligosacáridos y producción de isoflavonas agliconas” en donde a las 0 horas reporto valores de  $7,8 \times 10^1$  log UFC/ml de bacterias ácido lácticas,  $7,4 \times 10^1$  log UFC/ml de bacterias acéticas y  $6 \times 10^3$  log UFC/ml de levaduras, esto debido a que en su investigación utilizó adicionalmente cultivos liofilizados mixtos.

En el gráfico 4-3, se puede observar que a las 24 horas las bacterias ácido lácticas y ácido acéticas presentaron un crecimiento elevado, con recuentos de  $6,139 \times 10^3 \pm 5,131$  y  $6,094 \times 10^3 \pm 5,603$  log UFC/ml respectivamente; mientras que las levaduras presentaron un crecimiento lento con un valor de  $5,576 \times 10^3 \pm 5,028$  log UFC/ml. Cabe mencionar, que en este tiempo las bacterias ácido lácticas llegaron a su punto más alto de crecimiento (fase exponencial) con respecto a las demás, atribuyéndose al consumo rápido de los carbohidratos de la soya (sacarosa y rafinosa) por las bacterias ácido lácticas, influyendo directamente en su incremento poblacional y por ende su velocidad de crecimiento es alta, tal como lo menciona (Abdolmaleki et al., 2015. p.444). Estos recuentos son diferentes a los reportados por (Fernades et al., 2017. p.22) en “Evaluación del contenido de isoflavonas y fenoles totales del almacenamiento de leche de soja fermentada con kéfir y después de la simulación del sistema digestivo” en donde a las 24 horas reporto en bacterias lácticas  $8,3 \times 10^3$  log UFC/ml, en bacterias acéticas de  $7,8 \times 10^3$  log UFC/ml y en levaduras  $5,7 \times 10^3$  log UFC/ml con un descenso de pH de 4,54.

El conteo a las 48 horas en el presente estudio presenta como resultado el inicio del declive de las bacterias ácido lácticas y un crecimiento exponencial de bacterias ácido acéticas y levaduras, con recuentos de  $5,405 \times 10^3 \pm 3,833$  log UFC/ml;  $6,329 \pm 5,081$  log UFC/ml y  $6,250 \times 10^3 \pm 5,013$  log UFC/ml respectivamente. Estos datos son diferentes en comparación a lo obtenido por (Fernades et

al., 2017. p.23 ) en “Evaluación del contenido de isoflavonas y fenoles totales del almacenamiento de leche de soja fermentada con kéfir y después de la simulación del sistema digestivo” en donde a las 48 horas de fermentación las bacterias lácticas presentaron un valor de  $8,5 \times 10^3$  log UFC/ml, bacterias acéticas de  $5,8 \times 10^3$  log UFC/ml y  $5,7 \times 10^3$  log UFC/ml de levaduras. Explicado por (Grao, 2020) quien comenta que, en la fermentación, las bacterias lácticas van a crecer rápidamente, produciendo ácido láctico, disminuyendo el pH, la producción elevada de ácido láctico pueden inhibir el crecimiento de las bacterias, las levaduras utilizan el ácido láctico como fuente de carbono, disminuyendo su concentración y aumentando el pH, generando un ambiente apto para que las bacterias lácticas y acéticas sigan creciendo.

A las 72 horas tanto las bacterias ácido acéticas y las levaduras entran en fase estacionaria, reportando valores de  $5,763 \times 10^3 \pm 4,788$  y  $5,744 \times 10^3 \pm 4,491$  log UFC/ml respectivamente; mientras que las bacterias ácido lácticas continúan en declive desde las 48 horas, reportando valores de  $5,339 \times 10^3 \pm 4,178$  log UFC/ml. Esta reducción de microorganismos es justificada por (Suriasih et al., 2020. p. 136) quien menciona que un alargamiento de periodos de incubación de 48 y 72 horas reduce significativamente los recuentos microbianos, debido a la disminución de pH del medio en el que se encuentran. Esto es corroborado por (Laureys & Vuyst, 2014) quien afirma que los principales metabolitos producidos durante la fermentación son etanol y ácido láctico, en pocas concentraciones se producen el glicerol, ácido acético y manitol, los cuales se generan a partir de las 72 horas de fermentación, haciendo que el pH disminuya a 3,45; siendo este un factor más restrictivo disminuyendo la supervivencia y el desarrollo de las bacterias y levaduras.

Ya a las 96 horas de fermentación, el conteo microbiano presenta una disminución más notoria, en bacterias lácticas reportando valores de  $4,636 \times 10^3 \pm 3,398$  log UFC/ml, mientras que en las bacterias ácido acéticas y las levaduras presentaron valores similares de  $5,259 \times 10^3 \pm 3,780$  y  $5,397 \times 10^3 \pm 4,674$  log UFC/ml. Según (Miranda, D., 2018. p. 32) la disminución más baja en las BAL se debe posiblemente por las interacciones microbianas, que suele presentarse entre los microorganismos, llegando a inducir competencia, mutualismo o comensalismo, por lo general la inhibición de las BAL es causada por las levaduras, esto debido al orden sucesivo que suelen presentar dichos microorganismos (levadura antes que BAL). Es así; que una vez fermentado los azúcares y consumido prácticamente todos los nutrientes disponibles, las levaduras y las bacterias a las 96 horas comienzan su etapa de muerte celular, facilitando a que nuevos microorganismos dominen el medio.

## CONCLUSIONES

- Los valores obtenidos en el análisis bromatológico al utilizar el extracto soluble de soya germinado presento un contenido de carbohidratos totales de 5.57% pero, únicamente el 3.37 g/L corresponden a los azúcares fermentables, los cuales son aprovechables para los microorganismos del kéfir, sirviendo como fuente de alimento y energía, así como los lípidos (1.40%) y proteínas (6.66%). Con respecto a las características fisicoquímicas el pH (6.67) es ideal para el empleo en bebidas fermentadas, ya que se trata de una bebida no láctea, así como, su acidez (0.17% de ácido láctico) con contenido bajo.
- El recuento del inóculo inicial del extracto soluble de soya germinada con gránulos de kéfir, alcanza su fase de desarrollo logarítmico exponencial a las 24 horas en bacterias lácticas ( $6.139 \times 10^3$  log UFC/ml), mientras que las bacterias acéticas ( $6.329 \times 10^3$  log UFC/ml) y levaduras ( $6.250 \times 10^3$  log UFC/ml) a las 48 horas; el descenso de la población microbiana empieza en bacterias lácticas ( $5.339 \times 10^3$  log UFC/ml), acéticas ( $5.763 \times 10^3$  log UFC/ml) y levaduras ( $5.744 \times 10^3$  log UFC/ml) a las 72 horas.
- En cuanto a la actividad simbiótica, las bacterias ácido lácticas alcanzan su mayor crecimiento a las 24 horas, disminuyendo el pH del medio, mientras que estimula el crecimiento de levaduras a las 48 horas lo que favorece el crecimiento de las bacterias acéticas, creando un ambiente adecuado para el mantenimiento de las bacterias lácticas generando un estado de latencia desde las 48 a 72 horas. Una vez fermentado los azúcares y consumido prácticamente todos los nutrientes disponibles, a las 96 horas las bacterias y levaduras presentan una disminución considerable de la población ya que comienzan su etapa de muerte celular, creando una relación de mutualismo, en donde bacterias y levaduras se benefician para su crecimiento hasta su posible deceso.

## RECOMENDACIONES

- Realizar inoculaciones previas en los granos de kéfir con el extracto germinado de soya para generar una adaptación de los microorganismos al sustrato.
- Germinar los granos de soya por un tiempo no mayor a 5 días, para aprovechar los beneficios de la germinación en el producto. Eliminar las cascarras del grano de soya para evitar sabores indeseables en el producto.
- Para el incremento de recuento microbiano es necesario la adición de sustratos vegetales con mayor contenido de azúcares como: frutas o verduras; así también se debe optar por añadir algún endulzante que beneficie el crecimiento microbiano.
- Existe escasa información sobre el extracto soluble de leguminosas germinadas, por lo que se recomienda realizar más trabajos de investigación sobre el aprovechamiento de los nutrientes en leguminosas germinadas como; soya, frejol, garbanzo, habas, etc., las mismas que podrían ser utilizadas en bebidas probióticas.
- Debido a la falta de información en bebidas germinadas de leguminosas, se recomienda realizar los análisis fisicoquímicos, bromatológicos y microbiológicos en extractos secos.

## BIBLIOGRAFÍA

**ABDOLMALEKI, Farzaneh; et al.** "Assessment of beverages made from milk, soya milk and whey using Iranian kefir starter culture". *International Journal of Dairy Technology* [en línea], 2015. (Teherán-Irán) 68 (3), pp. 441-447. Disponible en:<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1471-0307.12197>

**ALVARADO, Paola Margarita.** Desarrollo de un bioproceso para la obtención de una bebida funcional a partir de lactosuero en polvo y gránulos de kéfir [En línea]. (Trabajo de titulación).(Ingeniería) Universidad Técnica del Norte, Facultad de Ingeniería en Ciencias, Carrera de Ingeniería Agroindustriales, Ibarra, Ecuador. 2018. [Consulta: 2022-08-18]. Disponible en:  
<http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/8282/1/03%20EIA%20464%20TRABAJO%20DE%20GRADO.pdf>

**ALVAREZ, Yenny.** Elaboración y caracterización de dos bebidas proteicas, una a base de quinua malteada y otra a base de quinua sin maltear (*Chenopodium quinoa*) [En línea] (Trabajo de Titulación). (Ingeniero en Industrias Alimentaria) Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann-Tacna, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Escuela Académico Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias, Perú. 2012. [Consulta:2022-10-01]. Disponible en:[http://repositorio.unjbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/2920/17\\_2012\\_alvarez\\_carita\\_yc\\_f\\_cag\\_industrias\\_alimentarias.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unjbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/2920/17_2012_alvarez_carita_yc_f_cag_industrias_alimentarias.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

**ARENAS VELA, Dilfer.** Influencia de la germinación sobre la composición químico-proximal, bioactividad, minerales y propiedades térmicas de lenteja (*Lens culinaris M.*), arveja (*Pisum sativum L.*) y frijol de palo (*Cajanus cajan L.*) [En línea] (Trabajo de titulación). (Ingeniería) Universidad Agraria de la Selva, Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias, Escuela Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias. Tingo María, Perú. 2022. pp. 12-33-34. [Consulta: 2023-01-06]. Disponible en:  
[http://repositorio.unas.edu.pe/bitstream/handle/UNAS/2246/TS\\_DAV\\_2022.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unas.edu.pe/bitstream/handle/UNAS/2246/TS_DAV_2022.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

**ARSLAN, Seher.** "A review: chemical, microbiological and nutritional characteristic of kefir". *Journal of Food* [En línea], 2014, 13(3), pp.340-345. Disponible en:

<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/19476337.2014.981588#:~:text=Kefir%20typical%20contains%2089-90,%2C%20109%2C%20280-290>.

**AOAC 981.12.** *AOAC Official Method 981.12 pH of Acidified Foods*. Disponible en: <https://doc.mbalib.com/view/71ba7f4759ab1b659d194fd1222526a3.html>

**AVILA-REYES, Sandra; et al.** “Comparative Analysis of Fermentation Conditions on the Increase of Biomass and Morphology of Milk Kefir Grains”. *Applied sciences* [en línea], 2022. (México) 12 (5). Disponible en: <https://www.mdpi.com/2076-3417/12/5/2459>

**BARRIOS, Alexandra, & QUISPE, Katherine.** Evaluación del uso de un soporte de inmovilización para la producción de bioetanol 1.5G a partir de Lactosuero por consorcio de *Kluyveromyces* spp. Aislados de kéfir empleando un solvente extractivo en un reactor Batch [en línea] (Trabajo de titulación), (Ingeniería) Universidad Católica de Santa María, Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas. Arequipas, Perú. 2014. [Consulta:2022-07-22]. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/198130444.pdf>

**BANSAL, R., & KAUR, M.** “Quality improvement and sensory evaluation of soya milk prepared by germinated soybeans”. *Semantic Scholar* [en línea]. 2015. Disponible en: <https://www.semanticscholar.org/paper/QUALITY-IMPROVEMENT-AND-SENSORY-EVALUATION-OF-SOYA-Bansal-Kaur/f571e8f67338e7eec28f6a6f1623953bbfea924d>

**BAÚ, T.R; et al.** "Changes in soymilk during fermentation with kefir culture: oligosaccharides hydrolysis and isoflavone aglycone production”. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* [en línea], 2015, 66(8). ISSN 1465-3478. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26460145/>

**BENINCASA, Paolo; et al.** "Sprouted Grains: A comprehensive Review". *Nutrients* [en línea], 2019, (Italia) 11(2). pp. 421. Disponible en: <https://www.researchgate.net/deref/http%3A%2F%2Fdx.doi.org%2F10.3390%2Fnu11020421>

**BORDONS, Albert; & REGUANT, Cristina.** “Bioquímica de las bacterias lácticas del vino y la fermentación maloláctica. *Rev.: Enoreports.com* [en línea]. 2013. p. 1. [Consulta:2023-01-11]. Disponible en: [https://www.acenologia.com/bioquimica\\_bacterias\\_lacticas\\_vino\\_cienc1213/](https://www.acenologia.com/bioquimica_bacterias_lacticas_vino_cienc1213/)

**BOYER, Renee.** “Elaboración de Conservas a Presión”. Elaboración de Conservas a Presión Rev. Virgine cooperative extensión. [en línea], 2015. (Virginia). p. 1. Disponible en: <https://vtechworks.lib.vt.edu/bitstream/handle/10919/75372/348-585S.pdf?se>

**BURANELO, Mariana; et al.** “Physicochemical Characteristics and Rheological Properties of Soymilk Fermented with Kefir”. Rev. Biointerface research in applied chemystre [en línea], 2021, (Brazil) 11 (2), p.4. Disponible en: <https://biointerfaceresearch.com/wp-content/uploads/2022/03/BRIAC132.127.pdf>

**BURGOS, Lady.** "Cuantificación de azúcares reductores del sustrato en residuos de piña con el método del ácido 3,5 dinitrosalicílico". Revista de Investigación [en línea], 2019. 13 (1). ISSN 2011-639X. Disponible en: <https://revistas.uamerica.edu.co/index.php/rinv/article/view/326/268>

**CAIZA, Liliana.** Elaboración de una bebida fermentada a partir de lactosuero y leche de chocho (*Lupinus mutabilis sweet*) utilizando al kéfir de agua como fermento [En línea] (Trabajo de Titulación). (Ingeniería) Universidad Técnica de Cotopaxi, Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Ingeniería Agroindustrial, Latacunga. 2019. [Citado el: 2022-08-10.] Disponible en: <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/6152/6/PC-000665.pdf>

**CAMPOS, Cynthia, & PONCE, Meily.** Obtención de una Bebida Fermentada (fermentación ácido-láctica) a base de semillas de Chenipodium Quinoa Germinada [En línea] (Trabajo de titulación). (Ingeniería en alimentos) Escuela Superior Politécnica del Litoral, Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción, Guayaquil, Ecuador. 2017. [Consultado: 2022-10-11]. Disponible en: <https://www.dspace.espol.edu.ec/retrieve/2585c975-fa91-46d9-814f-34ff652983dd/D-CD88640.pdf>.

**CASTRO, Jennifer, & CHÍA, Liseth.** Evaluación del aporte nutricional y riesgos para la salud asociados al consumo de germinados [En línea] (Trabajo de titulación). (Ingeniería) Universidad de Pamplona, Facultad de ingenierías y arquitectura, Especialización en seguridad alimentaria Bucaramanga, Pamplona, España. 2020. p. 46. [Consulta: 2022-08-21.]. Disponible en: [http://repositoriodspace.unipamplona.edu.co/jspui/bitstream/20.500.12744/4301/1/Castro\\_%20Chia\\_2020\\_TG.pdf](http://repositoriodspace.unipamplona.edu.co/jspui/bitstream/20.500.12744/4301/1/Castro_%20Chia_2020_TG.pdf).

**CARBONERO, Pilar. 1969.** *Bioquímica de las fermentaciones [en línea]*. Madrid- España: Universidad Politécnica. Disponible en: <https://oa.upm.es/55235/1/FERMENTACIONES.pdf>

**CARRÁ, Mariángele; et al.** "Proyecto "Kéfir, un alimento probiótico a costo cero": desafíos planteados por la experiencia comunitaria". Resúmenes del 5° Congreso Nacional de Extensión Universitaria [en línea], 2001, 3 (2). Disponible en: <https://revistas.unc.edu.ar/index.php/ext/article/view/1584>

**CEJUDO-VALENTÍN; et al.** "Producción de leche búlgara en el biorreactor aerobio utilizando un cultivo inmovil de kéfir". Revista Tecnológica Agrobioalimentaria [en línea], 2019. (Puebla-México) 3(1). pp. 43-48. ISSN 2395-8332. Disponible en: <http://agrobioalimentaria.uttehuacan.edu.mx/media/files/Vol3num1/PRODUCCIONDELECHEBULGARADAENUNBIORREACTORAEROBIOUTILIZANDOUNCULTIVOINMOVILDEKEFIR.pdf>

**CHAMPI, Faustino, & TAYPE, Nataly. 2018.** Efecto de tiempo de cocción y fermentación sobre la calidad de la bebida fermentada a base de maíz morado (*Zea Mays*) germinado de variedad de Kculli [En línea] (Trabajo de titulación).(Ingeniero en Industrias Alimentarias) Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, Facultad de Ingeniería de Procesos, Escuela Profesional de Ingeniería de Industrias Alimentarias, Arequipa, Perú. 2018. [Consultado: 2022-10-21]. Disponible en: <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/7227/IAchchf.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

**CHEN, Yeming, & CHANG, Sam.** "Macronutrients, Phytochemicals, and Antioxidant Activity of Soybean Sprout Germinated with or without Light Exposure". Revista de ciencia de los alimentos [en línea], 2015. 80(6), pp.1391-1398. Disponible en: <https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1750-3841.12868>

**COBAXIN, Mayra.** Mejoramiento de las características funcionales de una pasta de soya mediante fermentación [En línea] (Trabajo de titulación). (Maestro de Ciencias Alimentarias) Universidad Veracruzana, Instituto de Ciencias Básicas, Veracruz. 2011. pp. 1-94. Disponible en: <https://cdigital.uv.mx/bitstream/handle/123456789/46928/CobaxinMarquezMayraJannet.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

**COCIO, Jenny.** Elaboración del quesillo de leche de soya (*Glycine max*) con dición de Bacterias Probióticas (*Lactobacillus casei shirota* y *Bifidobacterium lactis Bb12*) [En línea] (Trabajo de

Titulación). (Licenciado en Ciencias de los Alimentos) Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela de Ingeniería en Alimentos, Valdivia, Chile. 2006. pp. 1-61. Disponible en: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2006/fac663e/sources/fac663e.pdf>

**CCOYLLO, Noe.** Elaboración de una bebida energética gasificada a partir de maltas de quinoa (*Chenopodium quinoa*), Kañihua (*Chenopodium pallidicaule*) y Cebada (*Hordeum vulgare*). (Trabajo de Titulación). (Ingeniero en Industrias Alimentarias) Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Facultad de Ingeniería Química y Metalurgia, Escuela Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias, Perú. 2019. [Consulta: 2022-11-08]. Disponible en: <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/3409>

**CONTRERAS, F.** “Inoculantes Microbiales para ensilaje”. Rev. Focus and forraje [En línea]. 2014, (Hong Kong) 8 (4), p.2. Disponible en: <https://fyi.extension.wisc.edu/forage/files/2014/01/Microbial-Inoculants-for-Silage-Espanol.pdf>

**CONTRERAS, Ramón.** “Medios para crecer levaduras”. Biología [en línea]. 2014. p. 2. [Consulta:2023-01-11]. Disponible en: <https://biologia.laguia2000.com/hongos/medios-para-crecer-levaduras>

**CUENCA, Martha, & QUICAZÁN, Martha.** "Comparación de la fermentación de bebida de soya y leche de vaca utilizando un cultivo láctico comercial". Revista Científica y Tecnológica [en línea], 2004, (Colombia) 5 (2). Disponible en: [https://revistaingenieria.univalle.edu.co/index.php/ingenieria\\_y\\_competitividad/article/view/2292/3042](https://revistaingenieria.univalle.edu.co/index.php/ingenieria_y_competitividad/article/view/2292/3042)

**DAVIES, Cristina.** Estudio de los procesos biotecnológicos de acetificación para la producción de vinagre de naranja y vinagre de arándanos [En línea] (Trabajo de titulación). (Tesis Doctoral) Universidad Politécnica de Valencia, Departamento de tecnología de alimentos. 2015. [Consulta: 2022-11-21]. Disponible en: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/59399/DAVIES%20-%20Estudio%20de%20los%20procesos%20biotecnol%F3gicos%20de%20acetificaci%F3n%20para%20la%20producci%F3n%20de%20vinagre%20d....pdf?sequence=1>.

**DE LA MANO, Luciana Gabriela; et al.** “Descripción y análisis de las técnicas de producción de kéfir”. Revista Nutrición Investiga [en línea], 2021, (Buenos Aires). Disponible en: [http://escuelanutricion.fmed.uba.ar/revistani/pdf/21b/an/927\\_c.pdf](http://escuelanutricion.fmed.uba.ar/revistani/pdf/21b/an/927_c.pdf)

**DUEÑAS, Joana.** “Germinados la fuerza de la vida”. Conasi [en línea], 2008. Disponible en: <https://studylib.es/doc/6072607/libro-germinados-pdf>.

**ELORZA, María. 2016.** *Brotos y Germinados*[en línea]. Santiago, 2016. Disponible en: [http://www.munistgo.info/medioambiente/wpcontent/uploads/2016/10/Brotos\\_y\\_Germinados.pdf](http://www.munistgo.info/medioambiente/wpcontent/uploads/2016/10/Brotos_y_Germinados.pdf)

**ESCALONA, Enrique; et al.** Elaboración de tofú condimentado con saborizantes artificiales sabor a queso [en línea] (Trabajo de Titulación). (Ingeniero en Alimentos) Instituto Politécnico Nacional, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología. México Distrito Federal. 2009. pp. 1-57. [Consulta: 2022-09-6]. Disponible en: <https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/23674/Escalona%20Sánchez%20Enrique.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

**ESQUIVEL RIVERA, Ingrid Ninibeth, & CAYRO ORTEGA, Stephany Samantha.** Elaboración de pan sin gluten en base a harinas de arroz (*Oryza sativa*), soya (*Glycine max*) y lenteja malteada (*Lens culinaris*), diseño y evaluación de un fermentador industrial. [En línea] (Trabajo de Titulación). (Ingeniería) Universidad Católica de Santa María. Facultad de Ciencias e Ingenierías Biológicas y Químicas, Escuela Profesional de Ingeniería de Industria Alimentaria, Perú. 2018. p. 17. [Consulta: 2023-01-08]. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/198131445.pdf>

**FERNANDES, Meg; et al.** “Evaluation of the content of isoflavones and total phenols of soy milk fermented with kefir during storage and after in vitro simulation of the digestive system”. Food Chemistry [En línea]. 2017. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.095>

**FERRARI, Alejandro; et al.** “*Alimentos fermentados: microbiología, nutrición, salud y cultura*”[en línea]. Buenos Aires-Argentina : Instituto Danone del Cono Sur, 2020. ISBN 978-987-25312-2-5. Disponible en: [https://www.danoneinstitute.org/wp-content/uploads/2020/12/Book-Fermented-Food-2020\\_sp.pdf](https://www.danoneinstitute.org/wp-content/uploads/2020/12/Book-Fermented-Food-2020_sp.pdf)

**FERREYRA, María; et al.** "Influencia del caudal de aire, temperatura y velocidad de agitación en el proceso discontinuo de acetificación para la obtención de vinagre de naranja (*Citrus sinensis* var.w.Navel)". *Scientia Agropecuaria* [en línea], 2012 (Argentina) 3(1), p. 61-65. ISSN: 2077-9917

**FUQUENE, Jessica, & ARENAS, Nathalya.** Desarrollo de una bebida fermentada y saborizada a base de soya con adición de inulina y de cultivos probióticos [En línea] (Trabajo de Titulación). (Ingeniería de Alimentos) Universidad de la Salle, Facultad de Ingeniería, Ciencia Unisalle, Bogotá. 2018. Disponible en: [https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1178&context=ing\\_alimentos](https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1178&context=ing_alimentos).

**GARCIA, Carlos; et al.** "Producción de ácido láctico por vía biotecnológica. Revisión de literatura". *Temas Agrarios* [en línea], 2010, (Montería, Colombia) 15(2), pp. 9-26. Disponible en: <https://revistas.unicordoba.edu.co/index.php/temasagrarios/article/view/676>

**GERALD, Liliana Mabel.** Caracterización de bacterias del ácido acético destinadas a la producción de vinagres de frutas [En línea] (Trabajo de titulación). (Doctorado) Universidad Politécnica de Valencia, Departamento de Tecnología de Alimentos, España. 2015. p. 33. [Consulta: 2023-01-10]. Disponible en: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/59401/GERARD%20-%20Caracterizaci%C3%B3n%20de%20bacterias%20del%20%C3%A1cido%20ac%C3%A9tico%20destinadas%20a%20la%20producci%C3%B3n%20de%20vinagres%20de....pdf?sequence=1>

**GHANI, Mirwais; et al.** "Soybean Sprouts: A Review of Nutrient Composition, Health Benefits and Genetic Variation". *Review Article* [en línea], 2016. 4 (4), pp. 398-412. ISSN 2287-9366

**GODOY BONILLA, Sandra Patricia; et al.** *Disponibilidad proteica de una bebida instantánea a partir de harina de plátano (*Musa paradisiaca* L.) y guandúl (*Cajanus cajan* (L.) Millsp)* [En línea] *Rev.: Ciencias Agroalimentarias*. Colombia. 2016. p.79. [Consulta:2023-01-07]. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/c25b/e72bd98d3872bee247fd53d905eeb6a0e134.pdf>

**GONZÁLEZ-OROZCO, Brianda; et al.** “Invited review: Milk kefir microbiota. Direct and indirect antimicrobial effects”. *Journal of Dairy Science* [en línea], 2022, 105 (5), pp. 3703-3715. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030222001205>

**GRAO, Cristiana.** Microbiología, composición y beneficios del kéfir[en línea] (Trabajo de titulación) Universidad Complutense, Facultad de Farmacia. 2020. Disponible en: <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/CRISTINA%20GRAO%20ROLDAN.pdf>.

**INSTITUTO NACIONAL AUTÓNOMO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS.** *Manual del cultivo de soya* [en línea]. Ecuador, estación experimental Boliche, 1996. Disponible en: <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/2076/1/iniaplsm32.pdf>

**JE-RUEI, Liu, & CHIN-WEN, Lin.** "Production of Kefir from Soymilk with or without added glucose, lactos, or sucrose". *Journal of Food Science*[en línea]. 2008. 65 (4). pp. 716-719. Disponible en: <https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2621.2000.tb16078.x>

**JIANG, Susu; et al.** "Food Quality Improvement of soy milk made from short-time germinated soybeans". *PubMed Central* [en línea], 2013. (China) 2(2), pp. 198-212. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5302266/#:~:text=Short-time%20germination%20is%20also,of%20the%20soy%20milk%20produced.>

**KIM, Woo-Jung; et al.** “Changes in Oligosaccharides and Sensory Quality of Soymilk During Germination”. *Korean J. Food SCL, Technol* [en línea].1986, (Korea) 18(5), pp. 384-385. Disponible en: <https://koreascience.kr/article/JAKO198603041915759.pdf>

**LENGKEY, H.A.W., & BALIA, R.L.** “The effect of starter dosage and fermentation time on pH ad Lactic Acid Production”. *Biotechnology in Animal Husbandry* [En línea]. 2014, (Belgrade-Zemun) 30(2), pp. 339-347. ISSN 1450-9156.

**LEÓN, Dafne.** Formulación de una bebida vegetal a partir de germinado y malteado de cañihua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen) variedad Cupi [En línea] (Trabajo de titulación). (Ingeniería) Universidad Peruana Unión, Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Escuela Profesional de Ingeniería de Alimentos, Lima, Perú. 2019. p. 46. [Consulta:2022-08-21.]. Disponibles en: [http://200.121.226.32:8080/bitstream/handle/20.500.12840/3533/Dafne\\_Tesis\\_Licenciatura\\_2020.pdf?sequence=4&isAllowed=y](http://200.121.226.32:8080/bitstream/handle/20.500.12840/3533/Dafne_Tesis_Licenciatura_2020.pdf?sequence=4&isAllowed=y).

**LEONARDO, Nataly.** Evaluación fisicoquímica, química proximal y sensorial de la leche de soya (Glycine max) fermentada con cultivo kéfir [En línea] (Trabajo de titulación). (Ingeniero Agroindustrial) Universidad Nacional del Centro de Perú, Facultad de Ciencias Aplicadas, Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, Tarma, Perú, 2017. [Consulta:2022-10-25]. Disponible en: <https://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12894/4844/Leonardo%20León.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

**LIMÓN GARDUZA, Rocío Ivonne.** Obtención de alimentos e ingredientes con propiedades antihipertensivas a partir de leguminosas germinadas y fermentadas [En línea] (Trabajo de Titulación) (Doctorado). (Tesis de Posgrado) Universidad Autónoma de Madrid, Facultad de Ciencias, Departamento de Química Agrícola y Bromatología, Madrid. 2015. p.35. [Consulta: 2023-01-04]. Disponible en: [file:///C:/Users/Hello/Downloads/limon\\_garduza\\_rocio\\_ivonne.pdf](file:///C:/Users/Hello/Downloads/limon_garduza_rocio_ivonne.pdf)

**LOOR CUSME, Rosanna Katerine; et al.** Bebida nutricional a partir de la mezcla fermentada maíz-soya. Rev.: ESPAMCIENCIA[en línea], 2010, (Manabí, Ecuador), p.75. [Consulta: 2023-01-09]. Disponible en: [http://revistasespam.espam.edu.ec/index.php/Revista\\_ESPAMCIENCIA/article/view/20/18?fbclid=IwAR0jGd0FBalGvKs52X91PfwDie2Ig7AQGmKMzhiuA1pcDdKrAx6Oy8G1GLg](http://revistasespam.espam.edu.ec/index.php/Revista_ESPAMCIENCIA/article/view/20/18?fbclid=IwAR0jGd0FBalGvKs52X91PfwDie2Ig7AQGmKMzhiuA1pcDdKrAx6Oy8G1GLg)

**LOPITZ, Fernando; et al.** "Kefir: A symbiotic yeasts-bacteria community with alleged healthy capabilities". Revista Iberoamericana de Micología [en línea]. 2006, (España) 23, p. 67-74. Disponible en: <http://www.reviberoammicol.com/2006-23/067074.pdf>

**MALDONADO Roberto; et al.** Elaboración de una bebida fermentada a base de quinoa Chenopodium quinoa. Rev. Scielo [en línea], 2018, (Ecuador) 9 (3), p.1. Disponible en: [http://scielo.senescyt.gob.ec/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1390-65422018000300001](http://scielo.senescyt.gob.ec/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1390-65422018000300001).

**MARTÍN, María.** Utilización biotecnológica de los microorganismos en la elaboración de productos alimentarios[En línea] (Trabajo de titulación), (Nutrición Humana y Dietética) Universidad Zaragoza. 2018. [Consultado:2022-06-25.] Disponible en: <https://zagan.unizar.es/record/77936/files/TAZ-TFG-2018-1858.pdf>.

**MEZA BONE, Jessica Sayonara.** Proceso de elaboración de helados con leche de soya (Glycine max (L) merril) saborizado con pulpa de arazá (Eugenia stipitata) [En línea] (Trabajo de Titulación). (Tesis de Pregrado) Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Carrera de Ingeniería Agroindustrial, Los Ríos, Ecuador. 2011. p.27. [Consulta: 2023-01-04]. Disponible en: <https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/4927/1/T-UTEQ-0021.pdf>

**MIRANDA, Arrieta.** Importancia de los germinados para el consumo humano [En línea]. (Trabajo de titulación). (Microbióloga Industrial) Universidad de Santander, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Agropecuarias, Microbiología Industrial, Bucaramanga. 2021. [Consultado: 2022-09-01]. pp. 7-51. Disponible en: [https://repositorio.udes.edu.co/bitstream/001/5646/1/Importancia\\_de\\_los\\_Germinados\\_Para\\_el\\_Consumo\\_Humano.pdf](https://repositorio.udes.edu.co/bitstream/001/5646/1/Importancia_de_los_Germinados_Para_el_Consumo_Humano.pdf).

**MIRANDA, Dalia.** Selección de levaduras y bacterias ácido lácticas nativas queretanas en base a su potencial enológico, compatibilidad y aporte al perfil aromático de vinos [En línea] (Trabajo de titulación).(Ingeniería) Universidad Autónoma De Querétaro, Facultad De Química, Programa De Posgrado En Alimentos Del Centro De La República (Propac), Santiago de Querétaro, México. 2018.p. 125. Disponible en: <http://ri-ng.uaq.mx/bitstream/123456789/1199/1/RI007880.pdf>

**MONTERO, Luis.** Características de una bebida fermentada elaborada con kéfir[en línea] (Trabajo de Titulación). (Ingeniero en Industrias Pecuarias) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias Pecuarias, Carrera de Ingeniería en Industrias Pecuarias, Riobamba, Ecuador. 2021. [Consulta:2022-06-22]. Disponible en: <http://dspace.espace.edu.ec/bitstream/123456789/15552/1/27T00505.pdf>.

**MORALES-SANTOS; et al.** "Características físicas y de germinación en semillas y plántulas de frijol (Phaseolus vulgaris L.) silvestres, domesticado y su progenie". Agrociencia Fitociencia [en línea], 2017, (México) 51(1). ISSN 1405-3195. Disponible en: [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1405-31952017000100043](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952017000100043)

**MRIDULA, Monika, & SHARMA, Monika.** "Development of non-dairy probiotic drink utilizing sproute cereals, legume and soymilk". LWT-Food Science and Technology [en línea]. 2014, (Punjab, India).

**MULLER, Paola.** Elaboración de Vinagre a partir de Vino de Arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) [En línea] (Trabajo de titulación). (Licenciado en Ciencias de los Alimentos) Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela de Ingeniería en Alimentos, Valdivia, Chile, 2005. [Consultado:2022-10-22]. Disponible en: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2005/fam958e/doc/fam958e.pdf>.

**MURUGKAR, Dipika.** "Effect of sprouting of soybean on the chemical composition and quality of soymilk and tofu". *Journal of Food Science and Technology* [en línea]. 2011, (India) 51(5), pp. 915-921. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4008751/>

**NORBERTO, Ana et al.** "Impact of partial and total replacement of milk by water-soluble soybean extract on fermentation and growth parameters of kefir microorganisms"[en línea]. 2018, pp. 491-498. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643818302949#:~:text=Thus%2C%20these%20findings%20support%20the,vegetarians%2C%20and%20lactose%20intolerant%20people.>

**NORMA TÉCNICA ECUATORIANA INEN 12.** *Leche. Determinación del contenido de grasa.* Disponible en: <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/12.pdf>.

**NORMA TÉCNICA ECUATORIANA INEN 2395:2011.** *Leches Fermentadas.* Requisitos. Primera edición. Disponible en: <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte-inen-2395-2r.pdf>.

**NOVILLO, Jorge.** Elaboración de una bebida fermentada con tres variedades de té de pulpa de café (typica, sarchmor y bourbón sydra), utilizando niveles de 1, 1.5 y 2% [En línea] (Trabajo de titulación). (Ingeniería) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias Pecuarias, Riobamba, Ecuador. 2021. pp. 3-59. [Consulta: 2022-09-14]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/15517/1/27T00469.pdf>.

**NSOFOR, Leslie, & OSUJI, Chijioko.** "Stability, Rheology and Chemical Properties of Soymilk Concentrates Developed from Sprouted Soybeans". *J. Food Sci. Technol* [en línea]. 1997, (Nigeria) 34 (1), pp.33-40. Disponible en: [https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/56228967/1\\_Stability\\_Rheology\\_and\\_Chemical\\_Properties\\_of\\_Soymilk\\_Concentr-libre.pdf?1522781324=&response-content-](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/56228967/1_Stability_Rheology_and_Chemical_Properties_of_Soymilk_Concentr-libre.pdf?1522781324=&response-content-)

[disposition=inline%3B+filename%3D1\\_Stability\\_Rheology\\_and\\_Chemical\\_Proper.pdf&Expires=1673575523&Signature=NvXZZOCPMWhgfxmIwNJDat4kt7EqcjPb6Zm3UXW5U6ZU1cTkhCMZbgF2xsn7zkE6En5VX6CDzJx896yZk6G-ZbVzL9JteLn3uAMY7oNsHthDfmqxdb3FAiy1Z9HPnOK45k7n2Hveq15WA1CkCq6tG~3J-I9fDmEUUR-2aJ~CtSOIqdoptlUILmeTIKkABckHim7a7mSd3vhI--rDaGLIV19UHK8Drb3YxfyhIrb~pBuR3XilkIv4gHSdktAXE-XF5d5m6teUHQmBAn9iEIB3IRQCsvO8In86bZQtEHqP~AL-sn-a8S1o46CIUCQUhX6JLrQ0~xZpcsiuUUMUx6nTw\\_&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA](https://www.academia.edu/35646716/Effect_of_Sprouting_in_Physico_chemical_Properties_of_Tofu)

**OJHA, Pravin; et al.** “Effect of Sprouting in Physico-chemical Properties of Tofu”. MedCrave Journal of Nutritional Health & Food Engineering [en línea], 2014. (Nepal) 1(2). p. 3. Disponible en: [https://www.academia.edu/35646716/Effect\\_of\\_Sprouting\\_in\\_Physico\\_chemical\\_Properties\\_of\\_Tofu](https://www.academia.edu/35646716/Effect_of_Sprouting_in_Physico_chemical_Properties_of_Tofu)

**OROZCO, Fátima.** Producción de ácido láctico por medio de fermentación anaerobia y su polimerización a partir de reacciones de apertura de anillo [En línea] (Trabajo de titulación).(Tesis de posgrado) Centro de investigación Científica de Yucatán A.C, Mérida, Yucatán. 2011. [Consulta: 2022-09-11] Disponible en: [https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1003/1333/1/PMP\\_M\\_Tesis\\_2011\\_Fati\\_ma\\_Orozco\\_Olivarez.pdf](https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1003/1333/1/PMP_M_Tesis_2011_Fati_ma_Orozco_Olivarez.pdf).

**OYEDEJI, Alibola; et al.** “Improvement of some quality attributes of soymilk through optimization of selected soybean sprouting parameters using response surface methodology”. CyTA-Journal of Food [en línea], 2018, 16(1). ISSN 1947-6345. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/19476337.2017.1388292>

**PALENCIA, Yannett.** “Los alimentos lácteos y sus limitaciones”. Medicina Naturista [en línea]. 2001, (Venezuela) (3), ISSN 1576-3080.

**PEDRIQUE DE AULACIO, Magaly.** Reproducción y crecimiento microbiano. Tema 6 [en línea]. 2008. p. 7. [Consulta:2023-01-23]. Disponible en: [http://www.ucv.ve/fileadmin/user\\_upload/facultad\\_farmacia/catedraMicro/08\\_Tema\\_6\\_crecimiento.pdf](http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/08_Tema_6_crecimiento.pdf)

**PILCO, Silvia.** Elaboración de una bebida a base de granos Andinos: Quinoa (*Chenopodium quinoa*) y Kiwicha (*Amaranthus caudatus*) [En línea] (Trabajo de titulación). (Doctor en Ciencia de Alimentos) Universidad Nacional Agraria La Molina, Escuela de Posgrado, Lima , Perú. 2021. p. 77. Disponible en: <https://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12996/4576/pilco-quesada-silvia.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

**PITA, José, & PEREZ, Félix.** *Germinación de semillas*[en línea].Madrid: Ministerio de Agricultura pesca y alimentación, 1998. Disponible en: [https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd\\_1998\\_2090.pdf](https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1998_2090.pdf)

**PONCE, Carolina et al.** "Utilidad en la alimentación de algunas semillas germinadas: brotes de soja y trigo".[en línea], 2013. (Madrid) 107, pp. 47-55. ISSN 0366-3272. Disponible en: <http://www.rsehn.es/cont/publis/boletines/183.pdf>

**PRADO, Maria; et al.** "Milk kefir: composition, microbial cultures, biological activities, and related products". Review article [en línea]. 2015, (Brazil) 6. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4626640/>

**QUICAZÁN, Martha; et al.** "Evaluación de la fermentación de bebida de soya con un cultivo láctico". Revista Colombiana de Biotecnología [en línea], 2001, (Bogotá-Colombia) 3(2).

**RACINES, Adriana.** Investigación de los germinados de lenteja, quínoa, zanahoria, mostaza y su aplicación a la gastronomía actual [En línea] (Trabajo de titulación). (Administrador gastronómico) Universidad Tecnológica Equinoccial, Facultad de Turismo y preservación ambiental, Hostelería y gastronomía, Quito, Ecuador. 2011. pp. 1-112. [Consulta: 2022-05-20]. Disponible en: [http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/11638/1/45590\\_1.pdf](http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/11638/1/45590_1.pdf).

**RAMÍREZ, Aldrin.** Actividad metabólica, viabilidad y exopolisacaridos de bacterias lácticas de granos de Kéfir liofilizados con potencial tecnologico en la región central [En línea] (Trabajo de Titulación).(Ingeniería) Universidad Nacional de Centro de Perú, Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias, Huancayo, Perú. 2020. [Consulta: 2022-04-1]. Disponible en: [https://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12894/6122/T010\\_70458805\\_T.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12894/6122/T010_70458805_T.pdf?sequence=1&isAllowed=y).

**RIAZ, Mian.** *Soy Applications in Food* [En línea]. New York-USA: Informa Taylor & Francis Group, 2006. ISBN 978-0-8493-2981-4.

**RIVAS, Carmen Marisela.** Fermentación de leche bovina adicionando cepas de kéfir liofilizado (*Lactobacillus Kefyr*, *Saccharomyces kephir*) para la obtención de una bebida kéfirada, UTE Santo Domingo, 2012 [En línea] (Trabajo de titulación). (Ingeniería Agroindustrial) Universidad Tecnológica Equinoccial Extensión Santo Domingo, Facultad de Ciencias de la Ingeniería, Carrera de Ingeniería Agroindustrial y Sistemas de Gestión, Ecuador, Santo Domingo. 2013. [Consulta:2022-09-12]. Disponible en: [http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/19130/1/6953\\_1.pdf](http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/19130/1/6953_1.pdf).

**RODAS, Deisy.** Efecto del porcentaje de gránulos de kéfir y temperatura de incubación en la elaboración de una bebida funcional [En línea] (Trabajo de titulación). (Ingeniería Agroindustrial) Universidad Nacional José María Arguedas, Facultad de Ingeniería, Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, Andahuaylas-Apurímac, Perú. 2019. [Consultado: 2022-11-13]. Disponible en: [https://repositorio.unajma.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14168/572/Deysi\\_Tesis\\_Bachiller\\_2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.unajma.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14168/572/Deysi_Tesis_Bachiller_2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y).

**RODRÍGUEZ BLANCO, Lili, & MIRANDA CRUZ, Edith.** “Contenido de Ácido Fólico y Fósforo Inorgánico en *Vigna unguiculata* y *Phaseolus vulgaris* Germinadas a Diferentes Temperaturas”. Rev.: Scielo [en línea], 2018, (La Serena ,Chile). p.11. [Consulta:2023-01-09]. Disponible en: [https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-07642018000300039&script=sci\\_arttext&fbclid=IwAR2J3e36QG4U0TmRuN342loiclj2P6c3fK9IAKepPtZK5INdifuNL6KQ0yk](https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-07642018000300039&script=sci_arttext&fbclid=IwAR2J3e36QG4U0TmRuN342loiclj2P6c3fK9IAKepPtZK5INdifuNL6KQ0yk)

**RODRÍGUEZ-FIGUEROA; et al.** "Avances en el estudio de la bioactividad multifuncional del kéfir". *Interciencia* [en línea], 2017, (Venezuela) 42, pp. 347-349. ISSN 0378-1844. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/339/33951621003.pdf>

**ROSA, Damiana; et al.** "Milk kefir: nutritional microbiological and health benefits". *Nutrition Research Reviews* [en línea]. 2017, (Brazil) 30, pp. 82-96. Disponible en: <https://www.posnutricao.ufv.br/wp-content/uploads/2018/03/Milk-kefir-nutritional-microbiological-and-health-benefits..pdf>

**SOTO, Marco.** *Soya en grano.* Quevedo. Disponible en:  
<https://bolsadeproductos.com.ec/listing/soya-en-grano/>

**SUÁREZ-MACHÍN, Caridad; et al.** "Levaduras *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. Revisión bibliográfica". ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar [en línea]. 2016, (La Habana-Cuba.) 50 (1), pp. 20-28. ISSN 0138-6204. Disponible en:  
<https://www.redalyc.org/pdf/2231/223148420004.pdf>

**TRUJILLO, Erika.** Diseño de un proceso industrial para la elaboración de kéfir en la microempresa de Lácteos Camilita [en línea] (Trabajo de titulación). (Ingeniería) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Ingeniería Química, Riobamba, Ecuador, 2019. [Consultado:2022-05-22]. Disponible en:  
<http://dspace.espace.edu.ec/bitstream/123456789/11062/1/96T00538.pdf>.

**VALENCIA, Patricia.** Evaluación tecnológica de la germinación y clarificación de las bebidas tradicionales fermentadas y pasteurizadas de maíz morado (*Zea mays*) y quinua (*Chenopodium quinoa*) variedad Inia 420 Negra Collana [En línea] (Trabajo de titulación).(Ingeniería). Universidad Nacional De San Agustín De Arequipa, Facultad De Ingeniería De Procesos, Escuela Profesional De Ingeniería De Industrias Alimentarias. Arequipa, Perú. 2018.p. 125. Disponible en: [http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12996/1903/Q02\\_H832%20-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12996/1903/Q02_H832%20-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y).

**YUGSI, Carla.** Evaluación de las propiedades físico-químicas, microbiológicas y sensoriales de kéfir elaborado con leche de almendra (*Prunus dulcis*) y de kéfir elaborado con leche de soya (*Glycine max*) [En línea] (Trabajo de titulación).(Ingeniería en Biotecnología) Universidad de las Fuerzas Armadas, Sangolquí, Ecuador.2022. [Consultado:2022-10-02.]. Disponible en: <http://repositorio.espe.edu.ec/jspui/bitstream/21000/29625/1/T-ESPE-052345.pdf>.



## ANEXOS

### ANEXO A. ACTIVACIÓN DEL KÉFIR DE LECHE.



### ANEXO B. SELECCIÓN E INSPECCIÓN DE LOS GRANOS DE SOYA PARA GERMINACIÓN.



### ANEXO C. PROCESO DE GERMINACIÓN DE LA SOYA (REMOJO E HIDRATACIÓN)



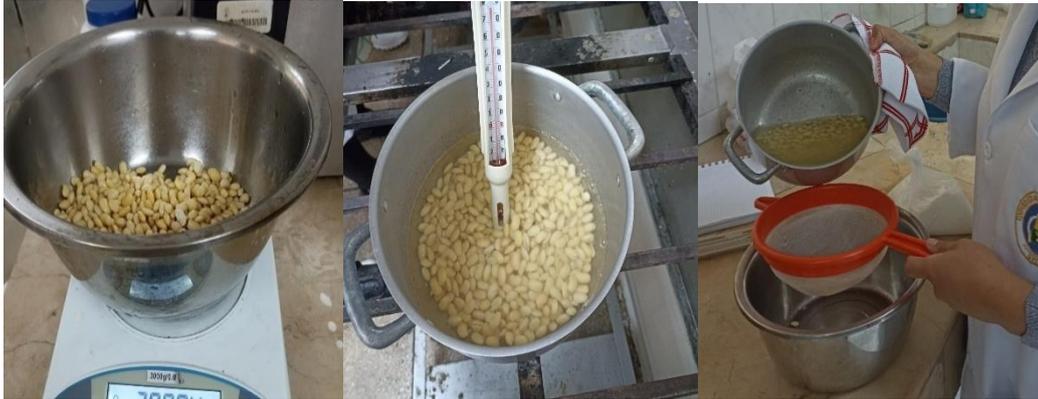
**ANEXO D. CRECIMIENTO DE LA RADÍCULA EN EL GRANO GERMINADO**



**ANEXO E. ELABORACIÓN DEL EXTRACTO SOLUBLE DE SOYA GERMINADO  
(SELECCIÓN Y PELADO DE LA MATERIA PRIMA).**



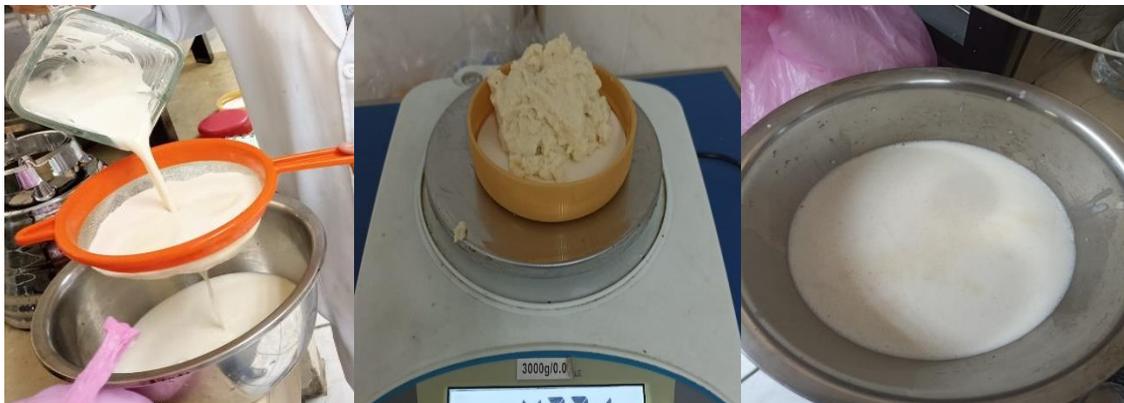
**ANEXO F. ELABORACIÓN DEL EXTRACTO SOLUBLE DE SOYA GERMINADO (ESCALDADO)**



**ANEXO G. ELABORACIÓN DEL EXTRACTO SOLUBLE DE SOYA GERMINADO (LICUADO Y CALENTAMIENTO)**



**ANEXO H. ELABORACIÓN DEL EXTRACTO SOLUBLE DE SOYA GERMINADO (FILTRACIÓN)**



**ANEXO I. ELABORACIÓN DEL EXTRACTO SOLUBLE DE SOYA GERMINADO  
(PASTEURIZACIÓN, ENFRIAMIENTO Y ALMACENAMIENTO)**



**ANEXO J. ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DE AZUCARES TOTALES DEL EXTRACTO  
SOLUBLE DE SOYA GERMINADA (HUMEDAD, CENIZA Y FIBRA)**



**ANEXO K. ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DE AZUCARES FERMENTABLES DEL EXTRACTO SOLUBLE DE SOYA GERMINADA.**



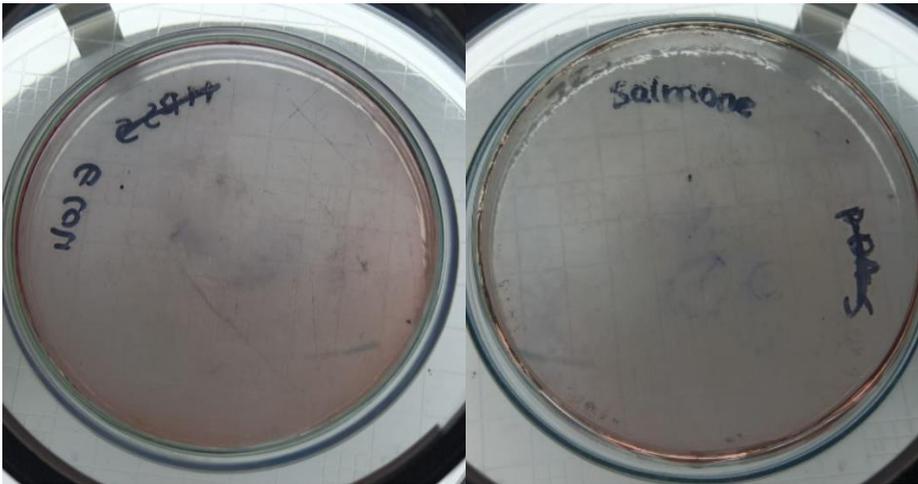
**ANEXO L. ANÁLISIS BROMATOLÓGICO EN GRASA Y PROTEÍNA DEL EXTRACTO SOLUBLE DE SOYA GERMINADA.**



**ANEXO M. ANÁLISIS FISCOQUÍMICO DEL EXTRACTO SOLUBLE DE SOYA GERMINADA (PH Y ACIDEZ)**



**ANEXO N. ANÁLISIS DE LA INOCUIDAD DEL EXTRACTO SOLUBLE DE SOYA GERMINADA EN *E. COLI* Y *SALMONELLA***



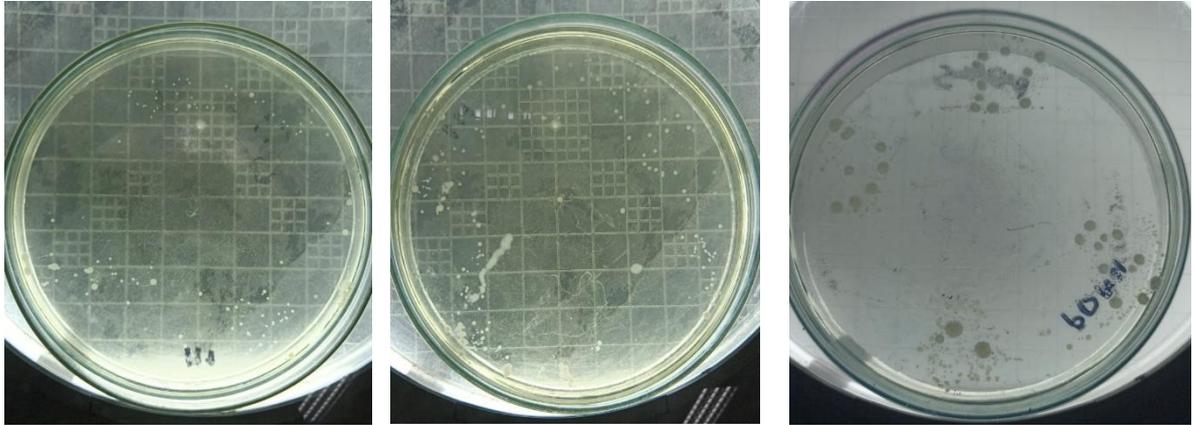
**A. RESULTADOS EXPERIMENTALES**

<b>Microorganismo</b>	<b>Repetición</b>	<b>Dilución</b>	<b>Colonias Contadas</b>	<b>Unidades Formadoras de Colonias (UFC/ml)</b>
<i>E. coli</i>	1	1X10 <sup>-1</sup>	0	Ausencia
	2	1X10 <sup>-1</sup>	0	Ausencia
	3	1X10 <sup>-1</sup>	0	Ausencia
	4	1X10 <sup>-1</sup>	0	Ausencia
<i>Salmonella</i>	1	1X10 <sup>-1</sup>	0	Ausencia
	2	1X10 <sup>-1</sup>	0	Ausencia
	3	1X10 <sup>-1</sup>	0	Ausencia
	4	1X10 <sup>-1</sup>	0	Ausencia

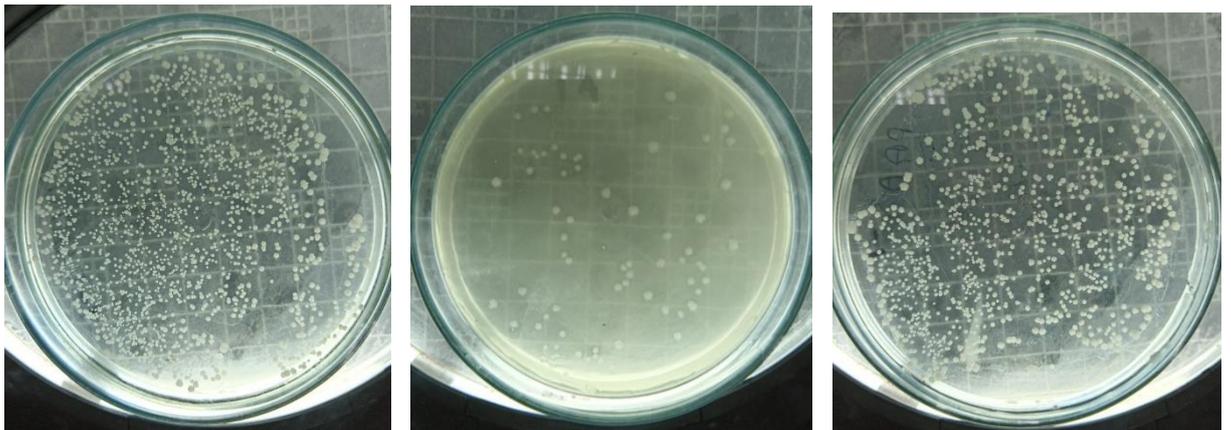
**Realizado por:** Chávez Díaz, Andrea, 2023.

**ANEXO O. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE BACTERIAS ACIDO LÁCTICAS, ACÉTICAS Y LEVADURAS PRESENTES EN EL EXTRACTO SOLUBLE DE SOYA GERMINADA CON KÉFIR DE LECHE**

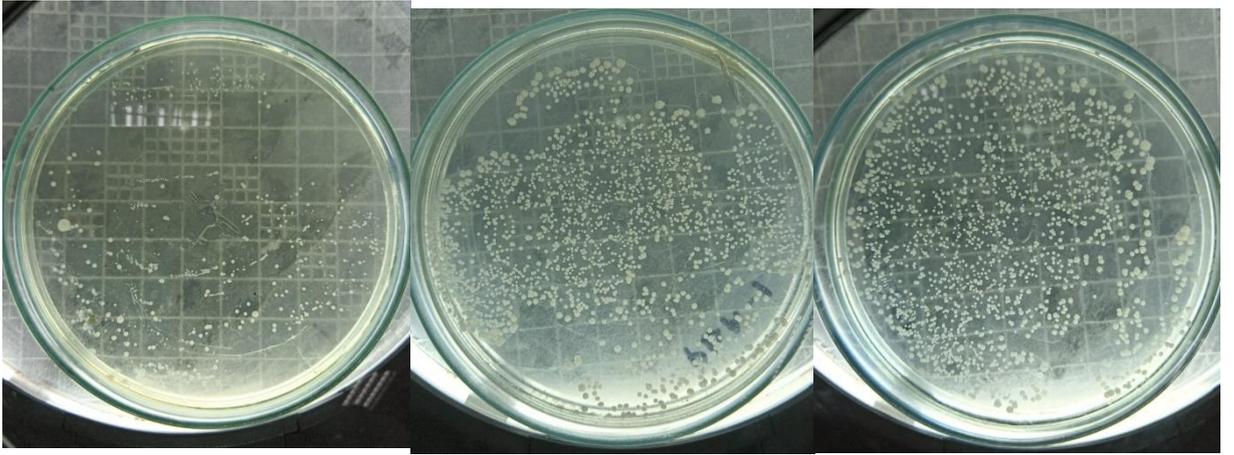
**A. TIEMPO 0 HORAS**



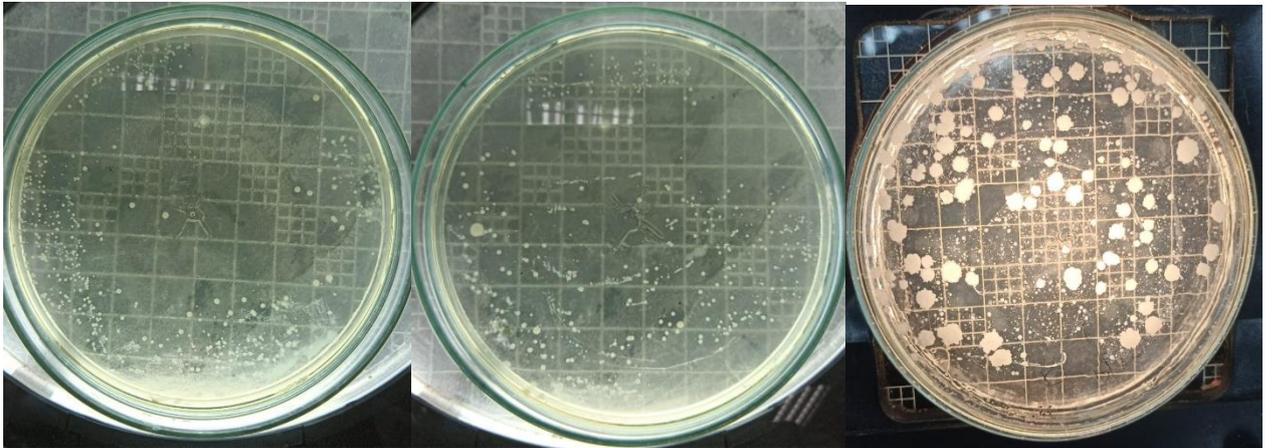
**B. TIEMPO 24 HORAS**



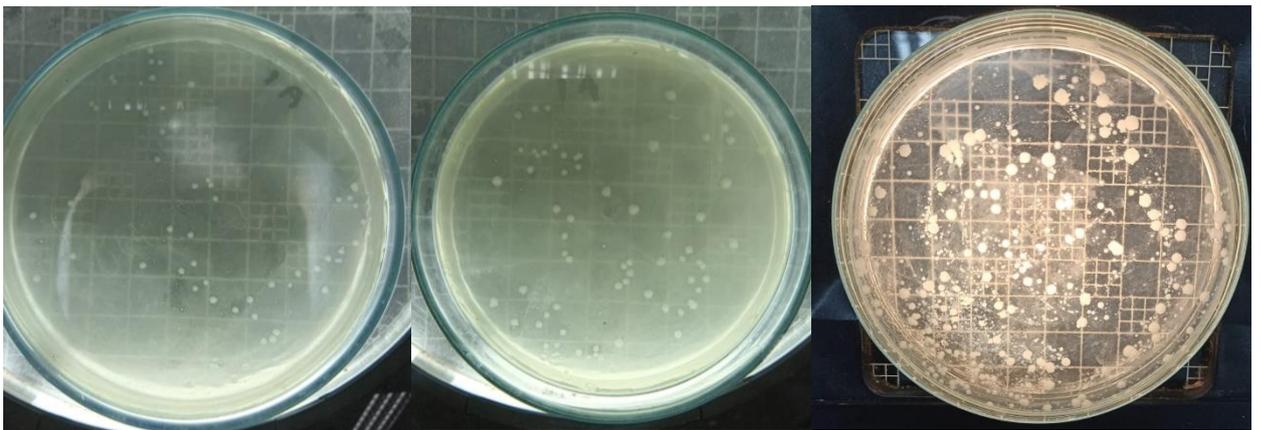
C. TIEMPO 48 HORAS



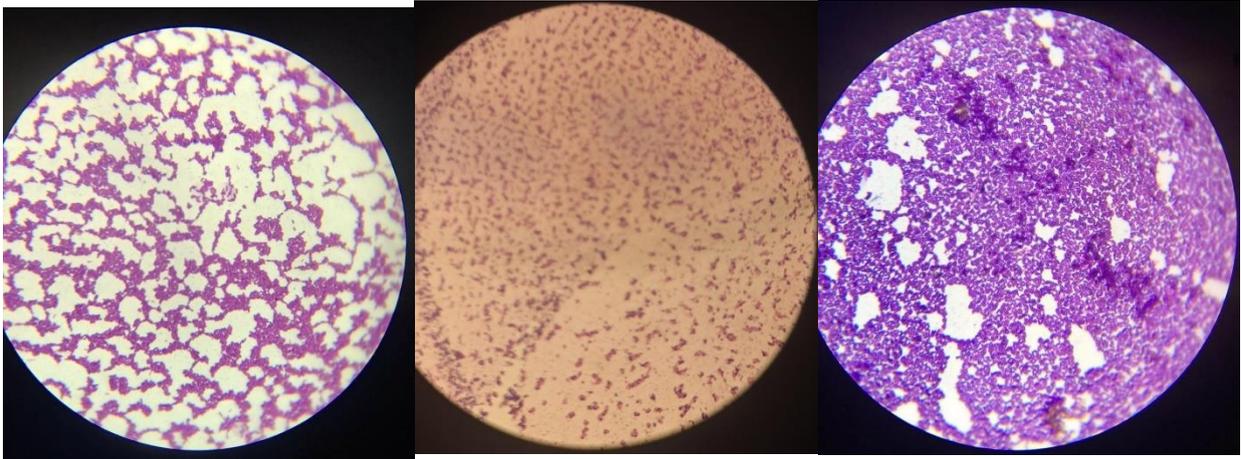
D. TIEMPO 72 HORAS



E. TIEMPO 96 HORAS



F. TINCIÓN GRAM DE BACTERIAS LÁCTICAS Y ACÉTICAS.



G. RESULTADOS EXPERIMENTALES

Microorganismo	Tiempo (Horas)	Repetición	Dilución	Unidades Formadoras de Colonias (UFC/ml)
Bacterias ácido lácticas	0	1	1X10 <sup>-3</sup>	4,0X10 <sup>3</sup>
		2	1X10 <sup>-3</sup>	3,0X10 <sup>3</sup>
		3	1X10 <sup>-3</sup>	6,0X10 <sup>3</sup>
		4	1X10 <sup>-3</sup>	6,0X10 <sup>3</sup>
	24	1	1X10 <sup>-3</sup>	1,41X10 <sup>6</sup>
		2	1X10 <sup>-3</sup>	1,54X10 <sup>6</sup>
		3	1X10 <sup>-3</sup>	1,34X10 <sup>6</sup>
		4	1X10 <sup>-3</sup>	1,21X10 <sup>6</sup>
	48	1	1X10 <sup>-3</sup>	2,61X10 <sup>5</sup>
		2	1X10 <sup>-3</sup>	2,47X10 <sup>5</sup>
		3	1X10 <sup>-3</sup>	2,59X10 <sup>5</sup>
		4	1X10 <sup>-3</sup>	2,50X10 <sup>5</sup>
	72	1	1X10 <sup>-3</sup>	2,39X10 <sup>5</sup>
		2	1X10 <sup>-3</sup>	2,18X10 <sup>5</sup>
		3	1X10 <sup>-3</sup>	2,03X10 <sup>5</sup>
		4	1X10 <sup>-3</sup>	2,14X10 <sup>5</sup>
96	1	1X10 <sup>-3</sup>	4,6X10 <sup>4</sup>	
	2	1X10 <sup>-3</sup>	4,0X10 <sup>4</sup>	
	3	1X10 <sup>-3</sup>	4,4X10 <sup>4</sup>	
	4	1X10 <sup>-3</sup>	4,3X10 <sup>4</sup>	
Bacterias acéticas	0	1	1X10 <sup>-3</sup>	4X10 <sup>3</sup>
		2	1X10 <sup>-3</sup>	5X10 <sup>3</sup>

		3	$1 \times 10^{-3}$	$3 \times 10^3$
		4	$1 \times 10^{-3}$	$4 \times 10^3$
	24	1	$1 \times 10^{-3}$	$1,842 \times 10^6$
		2	$1 \times 10^{-3}$	$1,02 \times 10^6$
		3	$1 \times 10^{-3}$	$1,04 \times 10^6$
		4	$1 \times 10^{-3}$	$1,06 \times 10^6$
	48	1	$1 \times 10^{-3}$	$2,02 \times 10^6$
		2	$1 \times 10^{-3}$	$2,30 \times 10^6$
		3	$1 \times 10^{-3}$	$2,08 \times 10^6$
		4	$1 \times 10^{-3}$	$2,15 \times 10^6$
	72	1	$1 \times 10^{-3}$	$6,10 \times 10^5$
		2	$1 \times 10^{-3}$	$4,87 \times 10^5$
		3	$1 \times 10^{-3}$	$6,12 \times 10^5$
		4	$1 \times 10^{-3}$	$6,07 \times 10^5$
	96	1	$1 \times 10^{-3}$	$1,85 \times 10^5$
		2	$1 \times 10^{-3}$	$1,75 \times 10^5$
		3	$1 \times 10^{-3}$	$1,78 \times 10^5$
		4	$1 \times 10^{-3}$	$1,88 \times 10^5$
Levaduras	0	1	$1 \times 10^{-3}$	$1,0 \times 10^5$
		2	$1 \times 10^{-3}$	$1,37 \times 10^5$
		3	$1 \times 10^{-3}$	$2 \times 10^5$
		4	$1 \times 10^{-3}$	$2,10 \times 10^5$
	24	1	$1 \times 10^{-3}$	$4,5 \times 10^5$
		2	$1 \times 10^{-3}$	$4,18 \times 10^5$
		3	$1 \times 10^{-3}$	$4,20 \times 10^5$
		4	$1 \times 10^{-3}$	$2,18 \times 10^5$
	48	1	$1 \times 10^{-3}$	$1,89 \times 10^6$
		2	$1 \times 10^{-3}$	$1,84 \times 10^6$
		3	$1 \times 10^{-3}$	$1,6 \times 10^6$
		4	$1 \times 10^{-3}$	$1,7 \times 10^6$
	72	1	$1 \times 10^{-3}$	$5,66 \times 10^5$
		2	$1 \times 10^{-3}$	$5,92 \times 10^5$
		3	$1 \times 10^{-3}$	$5,42 \times 10^5$
		4	$1 \times 10^{-3}$	$5,20 \times 10^5$
	96	1	$1 \times 10^{-3}$	$2,84 \times 10^5$
		2	$1 \times 10^{-3}$	$2,92 \times 10^5$
		3	$1 \times 10^{-3}$	$1,92 \times 10^5$
		4	$1 \times 10^{-3}$	$2,30 \times 10^5$

Realizado por: Chávez Díaz, Andrea, 2023.

## E. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

---

*Bacterias Ácido Lácticas (UFC/ml), 0h*

---

Media	4750
Error típico	750
Mediana	5000
Moda	6000
Desviación estándar	1500
Varianza de la muestra	2250000
Curtosis	-3,901234568
Coefficiente de asimetría	-0,37037037
Rango	3000
Mínimo	3000
Máximo	6000
Suma	19000
Cuenta	4
Mayor (1)	6000
Menor(1)	3000
Nivel de confianza(95,0%)	2386,834729

**Realizado por:** Chávez Díaz, Andrea, 2023.

---

*Bacterias Ácido Lácticas (UFC/ml), 24h*

---

Media	1375833,333
Error típico	67654,14498
Mediana	1375833,333
Moda	#N/D
Desviación estándar	135308,29
Varianza de la muestra	18308333333
Curtosis	0,390532544
Coefficiente de asimetría	0
Rango	325000
Mínimo	1213333,333
Máximo	1538333,333
Suma	5503333,333
Cuenta	4
Mayor (1)	1538333,333
Menor(1)	1213333,333
Nivel de confianza(95,0%)	215305,6837

**Realizado por:** Chávez Díaz, Andrea, 2023.

---

*Bacterias Ácido Lácticas (UFC/ml), 48h*

---

Media	254250
Error típico	3400,367627
Mediana	254500
Moda	#N/D
Desviación estándar	6800,735254
Varianza de la muestra	46250000
Curtosis	-4,657998539
Coefficiente de asimetría	-0,091405061
Rango	14000
Mínimo	247000
Máximo	261000
Suma	1017000
Cuenta	4
Mayor (1)	261000
Menor(1)	247000
Nivel de confianza(95,0%)	10821,48739

**Realizado por:** Chávez Díaz, Andrea, 2023.

---

*Bacterias Ácido Lácticas (UFC/ml), 72h*

---

Media	218500
Error típico	7533,259587
Mediana	216000
Moda	#N/D
Desviación estándar	15066,51917
Varianza de la muestra	227000000
Curtosis	1,684992917
Coefficiente de asimetría	0,935645197
Rango	36000
Mínimo	203000
Máximo	239000
Suma	874000
Cuenta	4
Mayor (1)	239000
Menor(1)	203000
Nivel de confianza(95,0%)	23974,19414

**Realizado por:** Chávez Díaz, Andrea, 2023.

---

*Bacterias Ácido Lácticas (UFC/ml), 96h*

---

Media	43250
Error típico	1250
Mediana	43500
Moda	#N/D
Desviación estándar	2500
Varianza de la muestra	6250000
Curtosis	0,928
Coefficiente de asimetría	-0,56
Rango	6000
Mínimo	40000
Máximo	46000
Suma	173000
Cuenta	4
Mayor (1)	46000
Menor(1)	40000
Nivel de confianza(95,0%)	3978,057882

---

**Realizado por:** Chávez Díaz, Andrea, 2023.

---

*Bacterias Ácido Acéticas (UFC/ml), 0h*

---

Media	4000
Error típico	408,2482905
Mediana	4000
Moda	4000
Desviación estándar	816,4965809
Varianza de la muestra	666666,6667
Curtosis	1,5
Coefficiente de asimetría	0
Rango	2000
Mínimo	3000
Máximo	5000
Suma	16000
Cuenta	4
Mayor (1)	5000
Menor(1)	3000
Nivel de confianza(95,0%)	1299,228264

---

**Realizado por:** Chávez Díaz, Andrea, 2023.

---

*Bacterias Ácido Acéticas (UFC/ml), 24h*

---

Media	1240416,667
Error típico	200611,7669
Mediana	1050833,333
Moda	#N/D
Desviación estándar	401223,5338
Varianza de la muestra	1,6098E+11
Curtosis	3,961184004
Coefficiente de asimetría	1,988343866
Rango	823333,3333
Mínimo	1018333,333
Máximo	1841666,667
Suma	4961666,667
Cuenta	4
Mayor (1)	1841666,667
Menor(1)	1018333,333
Nivel de confianza(95,0%)	638436,1764

---

**Realizado por:** Chávez Díaz, Andrea, 2023.

---

*Bacterias Ácido Acéticas (UFC/ml), 48h*

---

Media	2134166,667
Error típico	60317,44726
Mediana	2112500
Moda	#N/D
Desviación estándar	120634,8945
Varianza de la muestra	14552777778
Curtosis	0,784599376
Coefficiente de asimetría	0,926995107
Rango	281666,6667
Mínimo	2015000
Máximo	2296666,667
Suma	8536666,667
Cuenta	4
Mayor (1)	2296666,667
Menor(1)	2015000
Nivel de confianza(95,0%)	191957,0372

---

**Realizado por:** Chávez Díaz, Andrea, 2023.

---

*Bacterias Ácido Acéticas (UFC/ml), 72h*

---

Media	579000
Error típico	30683,87199
Mediana	608500
Moda	#N/D
Desviación estándar	61367,74397
Varianza de la muestra	3766000000
Curtosis	3,977419762
	-
Coefficiente de asimetría	1,993293923
Rango	125000
Mínimo	487000
Máximo	612000
Suma	2316000
Cuenta	4
Mayor (1)	612000
Menor(1)	487000
Nivel de confianza(95,0%)	97649,77503

**Realizado por:** Chávez Díaz, Andrea, 2023.

---

*Bacterias Ácido Acéticas (UFC/ml), 96h*

---

Media	181500
Error típico	3013,856887
Mediana	181500
Moda	#N/D
Desviación estándar	6027,713773
Varianza de la muestra	36333333,33
	-
Curtosis	3,727464018
Coefficiente de asimetría	0
Rango	13000
Mínimo	175000
Máximo	188000
Suma	726000
Cuenta	4
Mayor (1)	188000
Menor(1)	175000
Nivel de confianza(95,0%)	9591,437714

**Realizado por:** Chávez Díaz, Andrea, 2023.

---

*Levaduras (UFC/ml), 0h*

---

Media	161750
Error típico	26167,33014
Mediana	168500
Moda	#N/D
Desviación estándar	52334,66028
Varianza de la muestra	2738916667
Curtosis	-3,513280694
Coefficiente de asimetría	-0,382894833
Rango	110000
Mínimo	100000
Máximo	210000
Suma	647000
Cuenta	4
Mayor (1)	210000
Menor(1)	100000
Nivel de confianza(95,0%)	83276,12312

**Realizado por:** Chávez Díaz, Andrea, 2023.

---

*Levaduras (UFC/ml), 24h*

---

Media	376500
Error típico	53337,76023
Mediana	419000
Moda	#N/D
Desviación estándar	106675,5205
Varianza de la muestra	11379666667
Curtosis	3,665377472
Coefficiente de asimetría	-1,884249081
Rango	232000
Mínimo	218000
Máximo	450000
Suma	1506000
Cuenta	4
Mayor (1)	450000
Menor(1)	218000
Nivel de confianza(95,0%)	169744,558

**Realizado por:** Chávez Díaz, Andrea, 2023.

---

*Levaduras (UFC/ml), 48h*

---

Media	1776666,667
Error típico	51576,9831
Mediana	1776666,667
Moda	#N/D
Desviación estándar	103153,9662
Varianza de la muestra	10640740741

Curtosis	4,339100346
Coefficiente de asimetría	9,73296E-15
Rango	216666,6667
Mínimo	1668333,333
Máximo	1885000
Suma	7106666,667
Cuenta	4
Mayor (1)	1885000
Menor(1)	1668333,333
Nivel de confianza(95,0%)	164140,9793

**Realizado por:** Chávez Díaz, Andrea, 2023.

---

*Levaduras (UFC/ml), 72h*

---

Media	555000
Error típico	15502,68794
Mediana	554000
Moda	#N/D
Desviación estándar	31005,37588
Varianza de la muestra	961333333,3
Curtosis	-1,17175444

Coefficiente de asimetría	0,154597145
Rango	72000
Mínimo	520000
Máximo	592000
Suma	2220000
Cuenta	4
Mayor (1)	592000
Menor(1)	520000
Nivel de confianza(95,0%)	49336,47195

**Realizado por:** Chávez Díaz, Andrea, 2023.

---

*Levaduras (UFC/ml), 96h*

---

Media	249500
Error típico	23599,0819
Mediana	257000
Moda	#N/D
Desviación estándar	47198,16381
Varianza de la muestra	2227666667
Curtosis	-2,917217713
Coefficiente de asimetría	-0,505317695
Rango	100000
Mínimo	192000
Máximo	292000
Suma	998000
Cuenta	4
Mayor (1)	292000
Menor(1)	192000
Nivel de confianza(95,0%)	75102,81101

**Realizado por:** Chávez Díaz, Andrea, 2023.

**ANEXO P. ANÁLISIS DE AZUCARES TOTALES DEL EXTRACTO SOLUBLE DE SOYA GERMINADA.**

Repetición	Humedad (%)	Ceniza (%)	Fibra Cruda (%)	Extracto Etéreo (%)	Proteína (%)	Extracto libre de nitrógeno
1	85,8930	0,2253	0,1938	1,4200	6,7505	5,5174
2	85,9760	0,3771	0,1940	1,3900	6,9281	5,1347
3	85,7100	0,3498	0,1960	1,4100	6,5700	5,7642
4	85,8080	0,3724	0,1940	1,3800	6,3952	5,8504
<b>Suma</b>						22,2667
<b>Promedio</b>						5,5667

**Realizado por:** Chávez Díaz, Andrea, 2023.

**A. ANÁLISIS EXPERIMENTAL**

*Extracto libre de nitrógeno del extracto soluble de soya germinado.*

Media	5,57
Error típico	0,16
Mediana	5,64
Moda	#N/D
Desviación estándar	0,32
Varianza de la muestra	0,10
Curtosis	0,00
Coefficiente de asimetría	-1,01
Rango	0,72
Mínimo	5,13
Máximo	5,85
Suma	22,27
Cuenta	4,00
Mayor (1)	5,85
Menor(1)	5,13
Nivel de confianza(95,0%)	0,51

**Realizado por:** Chávez Díaz, Andrea, 2023.

**ANEXO Q. ANÁLISIS DE AZUCARES FERMENTABLES DEL EXTRACTO SOLUBLE DE SOYA GERMINADA.**

Masa del soluto (g)	Volumen de solución (ml)	Concentración
0,125	25	0,5
0,175	25	0,7
0,25	25	1
0,375	25	1,5
0,425	25	1,7
0,5	25	2

Realizado por: Chávez Díaz, Andrea, 2023.

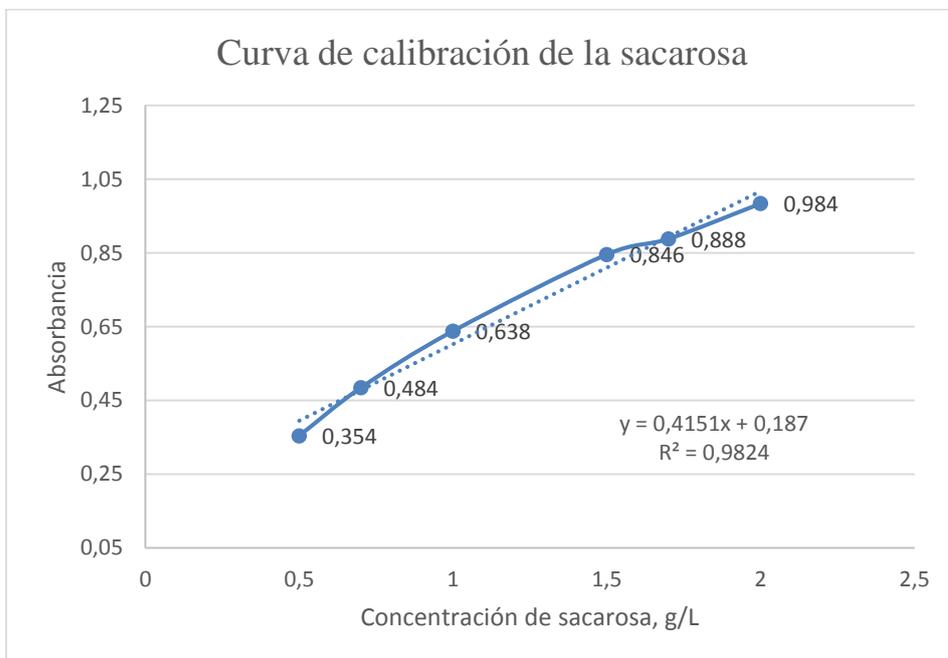
**Curva de calibración de la sacarosa**

Concentración	Absorbancia
0,5	0,354
0,7	0,484
1	0,638
1,5	0,846
1,7	0,889
2	0,984

Realizado por: Chávez Díaz, Andrea, 2023.

**Curva de calibración de extracto soluble de soya**

Germinado de soya		
Repetición	Absorbancia	Concentración
R1	1,582	3,3606
R2	1,596	3,3944
R3	1,580	3,3558
R4	1,583	3,3630



Realizado por: Chávez Díaz, Andrea, 2023.

## A. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

---

### *Azúcares fermentables del extracto soluble de soya germinado*

---

Media	3,37
Error típico	0,01
Mediana	3,36
Moda	#N/D
Desviación estándar	0,02
Varianza de la muestra	0,00
Curtosis	3,47
Coefficiente de asimetría	1,82
Rango	0,04
Mínimo	3,36
Máximo	3,39
Suma	13,47
Cuenta	4,00
Mayor (1)	3,39
Menor(1)	3,36
Nivel de confianza(95,0%)	0,03

---

**Realizado por:** Chávez Díaz, Andrea, 2023.

## ANEXO R. ANÁLISIS DE GRASA DEL EXTRACTO SOLUBLE DE SOYA GERMINADA.

Repetición	Cantidad de muestra (ml)	Contenido de grasa (%)
1	11	1,42
2	11	1,39
3	11	1,41
4	11	1,38
	<b>Suma</b>	5,60
	<b>Promedio</b>	1,40

**Realizado por:** Chávez Díaz, Andrea, 2023.

## A. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

---

*Contenido de grasa (%)*

---

Media	1,40
Error típico	0,01
Mediana	1,40
Moda	#N/D
Desviación estándar	0,02
Varianza de la muestra	0,00
Curtosis	-3,30
Coefficiente de asimetría	0,00
Rango	0,04
Mínimo	1,38
Máximo	1,42
Suma	5,60
Cuenta	4,00
Mayor (1)	1,42
Menor(1)	1,38
Nivel de confianza(95,0%)	0,03

---

**Realizado por:** Chávez Díaz, Andrea, 2023.

## ANEXO S. ANÁLISIS DE PROTEÍNA DEL EXTRACTO SOLUBLE DE SOYA GERMINADA.

Repeticiones	Muestra (g)	Volumen consumido de HCl al 1N (ml)	Proteína (%)
1	4,5	3,8	6,75
2	4,5	3,9	6,93
3	4,5	3,7	6,57
4	4,5	3,6	6,40
		<b>Suma</b>	26,65
		<b>Promedio</b>	6,66

**Realizado por:** Chávez Díaz, Andrea, 2023.

## A. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

<i>Proteína (%)</i>	
Media	6,66
Error típico	0,11
Mediana	6,66
Moda	#N/D
Desviación estándar	0,23
Varianza de la muestra	0,05
Curtosis	-1,20
Coefficiente de asimetría	0,00
Rango	0,53
Mínimo	6,40
Máximo	6,93
Suma	26,65
Cuenta	4,00
Mayor (1)	6,93
Menor(1)	6,40
Nivel de confianza(95,0%)	0,36

**Realizado por:** Chávez Díaz, Andrea, 2023.

## ANEXO T. ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DEL EXTRACTO SOLUBLE DE SOYA GERMINADA.

- pH

Repetición	Cantidad de muestra (ml)	PH
1	10	6,72
2	10	6,66
3	10	6,68
4	10	6,63
	<b>Suma</b>	26,69
	<b>Promedio</b>	6,6725

**Realizado por:** Chávez Díaz, Andrea, 2023.

- Acidez

Repetición	Cantidad de muestra (ml)	Gotas de Fenol	GASTO DE NAOH 0,1N	Acidez (Dorning)
1	10	3	1,8	0,16
2	10	3	2	0,18
3	10	3	1,9	0,17
4	10	3	2	0,18
			<b>Suma</b>	0,69

<b>Promedio</b>	0,17
-----------------	------

**Realizado por:** Chávez Díaz, Andrea, 2023.

## A. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

---

*PH*

---

Media	6,67
Error típico	0,02
Mediana	6,67
Moda	#N/D
Desviación estándar	0,04
Varianza de la muestra	0,00
Curtosis	0,26
Coefficiente de asimetría	0,36
Rango	0,09
Mínimo	6,63
Máximo	6,72
Suma	26,69
Cuenta	4,00
Mayor (1)	6,72
Menor(1)	6,63
Nivel de confianza(95,0%)	0,06

---

**Realizado por:** Chávez Díaz, Andrea, 2023.

---

*Acidez (Dorning)*

---

Media	0,17
Error típico	0,00
Mediana	0,18
Moda	0,18
Desviación estándar	0,01
Varianza de la muestra	0,00
Curtosis	-1,29
Coefficiente de asimetría	-0,85
Rango	0,02
Mínimo	0,16
Máximo	0,18
Suma	0,69
Cuenta	4,00
Mayor (1)	0,18
Menor(1)	0,16
Nivel de confianza(95,0%)	0,01

---

**Realizado por:** Chávez Díaz, Andrea, 2023.

**ANEXO V. ANÁLISIS DE GRADOS BRIX DEL EXTRACTO SOLUBLE DE SOYA GERMINADA.**

<b>Repetición</b>	<b>%BRIX</b>
1	6,4
2	6,7
3	6,2
4	6,4

**Realizado por:** Chávez Díaz, Andrea, 2023.



esPOCH

Dirección de Bibliotecas y  
Recursos del Aprendizaje

UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y  
DOCUMENTAL

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 17 / 03 / 2023

<b>INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)</b>
<b>Nombres – Apellidos:</b> Andrea Mishell Chávez Díaz
<b>INFORMACIÓN INSTITUCIONAL</b>
<b>Facultad:</b> Ciencias Pecuarias
<b>Carrera:</b> Ingeniería en Industrias Pecuarias
<b>Título a optar:</b> Ingeniera en Industrias Pecuarias
<b>f. responsable:</b> Ing. Cristhian Fernando Castillo Ruiz

D.B.R.A.I.  
Ing. Cristhian Fernando Castillo



0440-DBRA-UTP-2023