

UNIVERSIDAD TÉCNICA NACIONAL
SEDE ATENAS

ÁREA DE TECNOLOGÍA
INGENIERÍA EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

APLICACIÓN DE COMUNIDADES SIMBIÓTICAS EN PROCESOS
FERMENTATIVOS EN UNA BEBIDA QUE PERMITA GENERAR APORTES
NUTRICIONALES, APROVECHANDO SUBPRODUCTOS, A BASE DE LOS
RESIDUOS DE PIÑA (*ANANUS COMUSUS*)

TRABAJO FINAL DE GADUCIÓN PARA OPTAR POR EL GRADO DE
LICENCIATURA EN INGENIERÍA EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

ANA MARIA ARAYA SALAS
YERICA UMAÑA ARTAVIA

ATENAS, COSTA RICA
2022

DECLARACIÓN JURADA

Nosotras, Ana María Araya Salas, portadoras de la cedula de identidad 2-0739-0929, y Yericá Umaña Artavia, portadora de la cedula de identidad 7-0230-0922, estudiantes de la Universidad Técnica Nacional, UTN, en la carrera de Ingeniería en Tecnología de Alimentos, conocedoras de las sanciones legales con la Ley Penal de la República de Costa Rica castiga el falso testimonio y el delito de perjurio que pueda ocasionarse ante la directora de carrera y quienes constituyen el Tribunal Examinador de este trabajo de investigación es una obra original, respetando las leyes, y que ha sido elaborada, siguiendo las disposiciones exigidas por la Universidad Técnica Nacional, UTN, así como con los derechos de autor.

En fe de lo anterior, firmamos en la ciudad de Atenas, a los 21 días del mes de mayo de dos mil veintidós.

Ana María Araya S

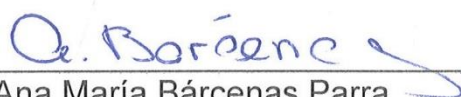
Ana María Araya Salas
Cédula 2-0739-0929

Y

Yericá Umaña Artavia
Cédula 7-0230-0922

HOJA DE APROBACIÓN

Este trabajo de graduación fue aprobado por el Tribunal Evaluador como requisito parcial para optar al grado de Licenciatura en Ingeniería en Tecnología de Alimentos.



Ana María Bárcenas Parra
Directora de Carrera



Cesar Duran Morales
Tutor de TFG



Cayen Tso Zapata
Lectora de TFG



Catalina Chaves Solano
Lector de TFG

DEDICATORIA

Dedico a Dios este logo, porque es el pilar de mi vida. Comparto esta alegría con mi madre María Elena, quien me inspira y motiva para que alcance mis metas. Y a mi querida hermana Silvia, le agradezco su apoyo incondicional.

Ana María Araya Salas

Este trabajo final de graduación está dedicado a mi mamá, papá y hermanas, pues ellos fueron los impulsores a culminar este proyecto, para seguir creciendo profesional y personalmente. También se lo dedico a Dios, ya que sin él nada sería posible. Finalmente, está dedicado a un ángel que partió hace un tiempo y tengo toda la convicción de que me ha dado la sabiduría para terminar este trabajo y obtener la licenciatura.

Yerica Umaña Artavia

AGADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por orientar mi camino para llegar a mi experiencia universitaria, a mi madre y a mi hermana por su entrañable apoyo. A Érick, mi compañero, quien me regala su presencia y compañía.

A mis tíos, Roy, Flor y Olga, por su estima y motivación.

A mis amigos, mi prima Valeria y colegas más cercanos quienes también son inspiración.

A mi compañera de tesis Yerica, ¡qué bonito lo que logramos!

Al profesor tutor, César Durán, y a doña María Bárcenas mi profundo agradecimiento también.

Ana María Araya Salas

Agradezco a mis padres, Juan y Rosa, por su apoyo y amor incondicional a lo largo de mi vida.

A mis hermanas, Aryenny y Marjorie, porque ellas han sido más que hermanas, y han velado porque siempre siga avanzando y superándome en mi vida.

A Glori, por ser mi ángel de luz en este turbulento proceso.

A César Durán, por su particular formar de motivarme.

A Joselin Rodríguez, por toda la ayuda que me brindó en este trabajo.

A Gabriela y Yoselin, por su apoyo incondicional.

TABLA DE CONTENIDOS

DECLARACIÓN JURADA	¡Error! Marcador no definido.
HOJA DE APROBACIÓN	¡Error! Marcador no definido.
DEDICATORIA	v
AGADECIMIENTOS	vi
TABLA DE CONTENIDOS	vii
ÍNDICE DE TABLAS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
ÍNDICE DE GÁFICOS	xiv
Resumen	xv
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Área de estudio	2
1.2 Delimitación del problema	3
1.3 Justificación	3
1.4 Antecedentes	6
1.5 Objetivos	7
1.5.1 Objetivo General.....	7
1.5.2 Objetivos Específicos	7
II. MARCO TEÓRICO.....	8
2.1 Fermentación.....	8
2.1.1 Fermentación alcohólica.....	10
2.1.1.1 Parámetros de la fermentación alcohólica.....	10
2.1.2 Fermentación láctica	12
2.1.3 Fermentación acética	13
2.1.3.1 Metabolismo aeróbico.....	14
2.1.4 Fermentación butírica.....	16
2.2 Microbiología	18

2.3 Levaduras.....	19
2.3.1 Características fisiológicas	20
2.4 Bacterias	23
2.4.1 Características fisiológicas	24
2.5 Comunidades simbióticas.....	29
2.5.1. Kéfir de agua	30
2.5.2. Kombucha	32
2.6 Frutas tropicales	34
2.6.1. Piña	35
2.6.1.1. Agricultura orgánica.....	36
2.6.1.2 Piña orgánica.....	39
2.8 Residuos	40
2.8.1 Residuos no peligrosos	40
2.9 Residuos de alimentos	41
2.10 Diagrama de flujo del proceso de kéfir de agua	43
2.11 Diagrama de flujo del proceso de kombucha	45
2.12 Barreras microbiológicas	48
2.13 Buenas Prácticas de Manufactura.....	49
2.14 Inocuidad de alimentos.....	50
2.14.1 Vida útil.....	50
2.15 Análisis sensorial.....	51
2.16 Panel Sensorial	52
2.16.1. Pruebas sensoriales	52
2.16.1.1 Pruebas afectivas	53
2.16.1.2 Pruebas discriminativas	53
2.16.1.3 Pruebas descriptivas	54
III. MARCO METODOLÓGICO	55
3.1 Enfoque de la investigación.....	55
3.2 Métodos de la investigación	56
3.2.1 Método científico	56

3.2.2 Método deductivo	56
3.2.3 Método inductivo	56
3.3 Tipo de investigación.....	56
3.4 Población y muestra	57
3.5 Materiales y equipos de laboratorio.....	58
3.6 Descripción de los ensayos.....	58
3.9 Descripción del proceso de kéfir de agua.....	61
3.10 Descripción de proceso de kombucha.....	64
3.10.1 Primera fermentación	64
3.10.2 Segunda fermentación	66
3.11 Panel sensorial	68
3.12 Comparación con marcas comerciales.....	68
3.12 Análisis Estadísticos.....	69
3.12.1 Hipótesis nulas	69
3.12.2 Hipótesis alternativas	70
3.13 Variables	71
IV. ANÁLISIS DE RESULTADOS	73
4.1 Resultado del comportamiento del Kéfir	73
4.2 Resultado del comportamiento de la Kombucha.....	78
4.3 Resultados de análisis estadísticos	83
4.3.1. Kefir: pH para Fermentación 1.....	83
4.3.2. Kefir: grados Brix para Fermentación 1	84
4.3.3. Kefir: pH para Fermentación 2.....	84
4.3.4. Kefir: grados Brix para Fermentación 2	84
4.3.5. Kombucha: pH para Fermentación 1.....	85
4.3.6. Kombucha: grados Brix para Fermentación 1	85
4.3.7. Kombucha: pH para Fermentación 2.....	86
4.3.8. Kombucha: grados Brix para Fermentación 2	86
4.3 Panel sensorial	87
4.4 Características piña convencional y orgánica	91

4.5 Análisis químicos a la cáscara de piña orgánica y convencional.....	93
4.5 Declaración de las propiedades de función de las bebidas listas para consumir de Kefir y kombucha con la presencia de bacterias ácido lácticas.....	95
4.6 Análisis cuantitativo de dos bebidas comerciales de kombucha, en el mercado costarricense.....	97
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	100
VI. REFERENCIAS.....	106
VII. ANEXO.....	128
Anexo 1 Fichas Técnicas de piñas.....	128
VIII. APÉNDICE.....	130
Apéndice 1 Fotografías tomadas durante los procesos de fermentación de la bebidas kéfir y kombucha	130
Apéndice 2 Formato para panel sensorial	132
Apéndice 3 variables de pH y °Brix	133
Apéndice 4 Determinación de la reducción de cloro residual	136

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Usos de levaduras en diversas industrias.	20
Tabla 2. Proceso biosintético para cumplir con el crecimiento de las bacterias	28
Tabla 3. Composición por 1litro de Kéfir.....	32
Tabla 4. Marco normativo de la Agricultura orgánica en Costa Rica.....	38
Tabla 5. Caracterización de los instrumentos que se utilizan en el laboratorio para análisis de sólidos totales (°Brix), pH y temperatura.	58
Tabla 6. Formulaciones de la bebida de kéfir ensayos 1, 2 y 3.....	60
Tabla 7. Formulaciones de las bebidas de kombucha ensayos 1,2,3 y 4.....	61
Tabla 8. Definición y operacionalización de variables	71
Tabla 9. Resultados estadísticos obtenidos del panel sensorial de la bebida de kombucha.	89
Tabla 10. Resultados estadísticos obtenidos del panel sensorial de la bebida de kéfir.	90
Tabla 11. Resultados de pH y grados Brix en la primera fermentacion de kéfir	133
Tabla 12. Resultados de pH y grados Brix en la segunda fermentacion de kéfir	133
Tabla 13. Resultados de pH y grados Brix en la primera fermentacion de kombucha	134
Tabla 14. Resultados de pH y grados Brix en la segunda fermentacion de kombucha	135

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Transformación de alcohol etílico en ácido acético	14
Figura 2 Curva de crecimiento de microorganismos.....	15
Figura 3 Reacción global teórica de la fermentación butírica	17
Figura 4 Especies de levaduras.....	22
Figura 5 Clasificación de microorganismos en función de la temperatura óptima ...	25
Figura 6 Diagrama de flujo del proceso de elaboración de una bebida fermentada a base de kéfir de agua	25
Figura 7 Diagrama de flujo del proceso de elaboración de una bebida fermentada a base de kombucha	46
Figura 8 Diagrama de flujo de kéfir.....	63
Figura 9 Diagrama de flujo de Kombucha	66
Figura 10 Piña fresca convencional (Ananas comusus) sin corona.....	91
Figura 11 Piña fresca orgánica (Ananas comusus) sin corona.....	92
Figura 12 Análisis cualitativo de pesticidas	93
Figura 13 Segundo análisis cualitativo de pesticida, en cáscara de piña orgánica ..	94
Figura 14 Presencia de bacterias ácido lácticos de Kéfir	95
Figura 15 Presencia de bacterias ácido lácticos de Kombucha.....	95
Figura 16 Segundo análisis de presencia de bacterias ácido lacticas de kombucha	957
Figura 17 Recuento bacterias ácido lácticas en una bebida comercial (Bebida 1)...	98
Figura 18 Recuento bacterias ácido lácticas en una bebida comercial (Bebida 2)...	98
Figura 19 Ficha Tecnica piña orgánica.....	128

Figura 20 Ficha Tecnica piña convencional.....	129
Figura 21 Proceso de fermentación de kombucha	1300
Figura 22 Pesado de Materia Prima	13030
Figura 23 Proceso de fermentacion de kefir	13031
Figura 24 SCOBY de kombucha	13031
Figura 25 Formato para prueba hedónica de aceptación de 5 puntos, utilizada para evaluar atributos sensoriales para bebida fermentada con kéfir y cáscara de piña adicionada	132
Figura 26 Formato para prueba hedónica de aceptación de 5 puntos, utilizada para evaluar atributos sensoriales para bebida fermentada con kombucha y piña adicionada	132
Figura 27 Instrucciones para cloro libre residual del agua.....	136
Figura 28 Análisis de agua sin hervir.....	137
Figura 29 Análisis de agua hervida (70°C por 20 segundos).....	138

ÍNDICE DE GÁFICOS

Gráfico 1 Promedio de grados Brix en el ensayo 1,2 y 3 durante la primera fermentación en uso de tibicos para la bebida de kéfir.....	73
Gráfico 2 Promedio de pH en el ensayo 1,2 y 3 durante la primera fermentación en uso de tibicos para la bebida de kéfir	74
Gráfico 3 Promedio de pH en el ensayo 1,2 y 3 durante la segunda fermentación..	76
Gráfico 4 Promedio de grados Brix en el ensayo 1,2 y 3 durante la segunda fermentación.....	77
Gráfico 5 Promedio de pH en el ensayo 1,2,3 y 4 en la primera fermentación de Kombucha	78
Gráfico 6 Promedio de grados Brix en el ensayo 1,2,3 y 4 en la primera fermentación de Kombucha	80
Gráfico 7 Promedio de pH en el ensayo 1,2,3 y 4 en la segunda fermentación de Kombucha	81
Gráfico 8 Promedio de grados Brix en el ensayo 1,2,3 y 4 en la segunda fermentación de Kombucha	82
Gráfico 9 Panel Sensorial de kombucha	87
Gráfico 10 Panel sensorial kéfir.....	88

Resumen

En el presente trabajo se analizaron procesos de fermentación, haciendo uso de comunidades simbióticas, compuestas de bacterias y levaduras ácido lácticas, del kéfir y la kombucha, aplicando cáscara de piña triturada. Debido a esto, se elaboraron prototipos con diferentes formulaciones, en los °Brix iniciales y pH, con adición de cáscara de piña en la segunda fermentación.

Las variables monitoreadas fueron °Brix y pH, de esta manera, se observaron comportamientos de los microorganismos, definiendo las condiciones favorables para que se llevara a cabo una fermentación exitosa.

Se observó los comportamientos de los microorganismos, tanto de SCOBY de kombucha como de tibicos de kéfir, adicionando la cáscara de piña en la segunda fermentación, para obtener una bebida con presencia de probióticos; esto debido a la cantidad de bacterias y levaduras que contienen las bebidas (Almeida, 2019).

La presencia de probióticos en la bebida de kéfir en agua puede brindar beneficios, por ejemplo, mejorar la flora intestinal, fortalecer el sistema inmune, tiene propiedades antibióticas, reduce el colesterol y la presión arterial y puede ser consumido por personas veganas, entre otros (Fernández Pérez, 2017).

De acuerdo con el panel sensorial realizado, mediante una prueba de aceptación, se logró determinar que la bebida kéfir con cáscara de piña tenía mayor aceptación en comparación con la bebida kombucha con cáscara de piña.

I. INTRODUCCIÓN

La presente investigación es un estudio para determinar la factibilidad del uso de la cáscara de piña (entiéndase este como un residuo de la piña), en un proceso de fermentación innovador para el consumo humano mediante la aplicación de diferentes procesos, ya sea enzimáticos, químicos o biológicos, con el fin de formular prototipos de bebidas sin alcohol.

Por medio del uso de tibicos de kéfir y SCOBY de kombucha se generarán procesos fermentativos para el aprovechamiento a la cáscara de piña, ya que será un método estandarizado de fermentación replicable en la industria de alimentos en Costa Rica, ofreciendo una opción en donde se puedan aprovechar los desechos a fin de generar productos de valor agregado para las empresas procesadoras.

El método de investigación es mixto, es decir, exploratorio y experimental, pues a partir de la información existente (fuentes bibliográficas) sobre el tema, se elaboran prototipos. Posteriormente, en la investigación experimental, se desarrollan los ensayos para luego obtener datos de la repetición de estos y respectivo análisis.

En ocasiones, cuando se tiende a trabajar con residuos, comúnmente se cree que son productos no aptos para el consumo humano, pero si los residuos son procesados de manera adecuada, pueden convertirse en una materia prima apta para su consumo, como lo es cáscara de piña, que por medio de análisis cualitativos se determinó la presencia o ausencia de productos que pueden afectar la salud del consumidor, ver ilustración 12 y 13.

Asimismo, fermentar materias primas ha sido un método de conservación de alimentos a lo largo de la historia; en algunas situaciones se adicionan microorganismos, frutos, azúcares o antioxidantes para obtener un producto de alta calidad, además de una modificación en el producto inicial en cuanto a textura, aumento del tiempo de vida útil, generación de alcohol, o bien, una modificación en su acidez, dando como características una potencialización en el olor y sabor de los alimentos tratados (Morales, 2012).

En la actualidad, para fermentar se pueden utilizar métodos específicos que facilitan los procesos, por medio de condiciones controladas en el medio donde son inoculados los microorganismos, de acuerdo a la investigación científica por Gloria Inés Puerta Quintero, menciona que las variables como la temperatura, humedad, aw, °Brix, entre otros, ayudan a producir fermentaciones óptimas como de tipo alcohólica, acética, láctica o mezcla de ellas, necesarias para generar un proceso adecuado y comercialmente aceptado (Puerta, 2010).

1.1 Área de estudio

El presente trabajo de investigación alude al área de Ingeniería en Tecnología de los Alimentos, concretamente en la evaluación de la viabilidad para el aprovechamiento de subproductos, a partir de cáscara de piña (*Ananus comosus*) generados en una pequeña empresa procesadora.

1.2 Delimitación del problema

La presente investigación se establece a partir del estudio de la evaluación de la viabilidad técnica para elaborar una bebida fermentada no alcohólica y de alta presencia de bacterias ácido lácticas beneficiosas a la salud, a partir de los desechos de la cáscara de piña.

Parte del desperdicio alimentario se da en las tierras utilizadas para siembra, ya que una sección de la cosecha no llega al consumidor. Se estima que en el 2019 se desperdiciaron 931 millones de toneladas de alimentos vendidas en hogares, comercios minoristas, restaurantes, entre otros servicios de alimentación, dicha cantidad representó el 17% del total de los alimentos que había disponibles para consumir en el 2019 (ONU, 2021).

Los residuos en una empresa, además de significar una merma y pérdida económica, podrían valorarse como un recurso aprovechable a través de la implementación de un plan de manejo, pues estos residuos deben tratarse correctamente de acuerdo con lo establecido en la Ley N° 8839 Ley para la Gestión Integral de Residuos.

1.3 Justificación

Actualmente, la industria alimentaria se ha caracterizado por los altos índices de residuos generados en las plantas procesadoras y Costa Rica no es la excepción, pues muchas empresas en su proceso productivo van generando un impacto ambiental negativo, debido a que la mayoría no cumple con la Ley N° 8839 Ley para la Gestión Integral de Residuos, donde se indica reutilizar en la misma cadena sus residuos (SCIJ, 2010).

Al generar gran cantidad de residuos en las diferentes industrias alimentarias, se ven afectados recursos naturales limitados como agua, tierra, energía; ya que esto genera como consecuencia el cambio climático (Coto, 2019). Además, la magnitud del impacto aumenta cuando se llevan a cabo procesamiento industriales, pues el incremento se da paralelamente con el nivel de procesamiento y sus diferentes operaciones unitarias aplicadas a los productos, a raíz de que en la cadena de suministro se llega al punto en donde se pierden, o bien, se desperdician los productos procesados (FAO, 2015).

Dado lo anterior, es importante recalcar el posible aporte ambiental de la industria alimentaria a través del manejo adecuado de sus residuos en generación de nuevos productos alimenticios, de manera que se maximice el aprovechamiento de las materias primas. En el caso del Instituto Desarrollo Rural (INDER), este capacita a pequeños y medianos productores, dando asesoría y financiamiento para la compra óptima de equipo requerido para el procesamiento de estos (Inder, 2018).

Para el 2014, en Costa Rica, se crea la Red Costarricense para la Disminución de Pérdidas y Desperdicio de Alimentos con el objetivo de disminuir la pérdida de alimentos, mediante charlas para sensibilizar a los distintos sectores, capacitaciones de valor agregado, detección y prevención pérdidas alimenticias. El principal representante es el Instituto Tecnológico de Costa Rica ante la FAO, acompañado por instituciones públicas y privadas: Unilever, Sepsa, Proyecto Plato Lleno, Equipos Nieto, CACIA, Redies, Incopesca, Pima-Cenada, Asamblea Legislativa, Red Na PH, Budget Rent a Car, Cegesti, ICT, Colegio de Ingenieros Agrónomos, INA, UCR, UTN, UNA, UNED, UCI, CACORE, Minae-Digeca, Cámara Nacional de Exportadores de Productos Pesqueros, movimiento Slow Food Costa Rica, CNP, MEP, Fedoma, Fucoga, ILSI, IICA, Inder, Banco de Alimentos y Programa Estado de la Nación, según (Red Costarricense para la Disminución de Pérdidas y Desperdicios de Alimentos, s. f.)

El mundo vive en un constante cambio, donde los nichos de mercado modifican sus preferencias a través del tiempo, por lo tanto, la aplicación de nuevos métodos y de líneas de producción con residuos puede generar una fuente de ingresos adicional a lo que ya se tiene contemplado en una compañía.

El aprovechamiento de los residuos en la industria de alimentos tiende hacia los alimentos funcionales que contienen componentes biológicamente activos para producir efectos beneficiosos y nutricionales básicos en el organismo. Esta área se conoce que va en constante aumento la aceptación por parte de los consumidores (Fuentes, Acevedo y Gelvez, 2015).

Los residuos de las frutas tropicales como la piña, papaya y mango tienen contenido de micronutrientes, antioxidantes y fibra que pueden aportar para el desarrollo de alimentos funcionales (Castro, Díaz Moreno y Gutiérrez Cortés, 2017). Por lo tanto, la siguiente investigación pretende mitigar el impacto ambiental y disminuir el desperdicio alimentario, generando valor agregado a un residuo de la industria rico en nutrientes.

1.4 Antecedentes

Costa Rica es un productor de alimentos y que exporta a otros países, pero esto ha provocado que las normas de calidad aumenten cada día, dejando a un lado aquellos alimentos que no logan cumplir con estos, generando pérdidas de alimentos. Ya en 2018, el cultivo de piña representó un 34,9 % de las exportaciones de frutas frescas (Bolaños, Miller Ganados y Arguedas González, 2020).

Un problema global es la pérdida de alimentos. Se estima que en 2019 llegó a alcanzar cifras de 931 millones de toneladas de alimentos totales (ONU, 2021). La pérdida de alimentos se da a lo largo de la cadena alimentaria, desde que sale del campo hasta que llega a la mesa.

En Costa Rica, se estima 365 toneladas de desperdicio de alimentos al año. Con el fin de mitigar esta situación, se creó el Banco de Alimentos de Costa Rica, que involucra a la empresa privada y genera conciencia en cuanto al desperdicio de alimentos en donde se logra recolectar 248 toneladas por mes.

Debido a los datos antes mencionados sobre la cantidad de desperdicios que se generan en el mundo, incluyendo a Costa Rica, evidencian la necesidad de crear oportunidades de aprovechamiento para los residuos que se puedan consumir, por ende, se dio la elaboración de un proceso fermentativo para una bebida haciendo uso de comunidades simbióticas, adicionando cascara de piña con el fin de aportar un sabor tropical agradable al consumidor.

1.5 Objetivos

Este apartado corresponde a la definición de los objetivos de la investigación y lo que con esta se pretende alcanzar.

1.5.1 Objetivo General

Evaluar la viabilidad técnica del aprovechamiento de subproductos, obtenidos en una empresa procesadora a partir de la cascara de piña, para su uso en una bebida, por medio de procesos de fermentación.

1.5.2 Objetivos Específicos

1.5.2.1. Caracterizar la cáscara de piña, mediante métodos físico-químicos, en cumplimiento de parámetros de inocuidad y calidad deseados.

1.5.2.2. Determinar, por medio de los parámetros de pH y grados Brix, el comportamiento durante el proceso de fermentación de bebidas con comunidades simbióticas.

1.5.2.3. Examinar, por medio diferentes métodos de análisis, las muestras de producto terminado, garantizando la inocuidad en los ensayos realizados.

1.5.2.4. Determinar la aceptación de las bebidas fermentadas, desarrolladas para la investigación mediante la prueba sensorial de aceptación a panelistas no entrenados.

II. MARCO TEÓRICO

En el siguiente capítulo se mencionan y aclaran ciertos tópicos de interés para el trabajo de investigación, relacionados al tema que se desarrolla en la creación de un proceso de fermentación, haciendo uso de subproductos, de manera que se genere una base teórica, que facilite la comprensión del proyecto.

2.1 Fermentación

A lo largo de la historia del ser humano y su evolución, se han realizado procesos fermentativos con el fin de preservar alimentos, como también dar sabor, textura, aroma y hasta valor nutricional a bebidas o alimentos, tales como cervezas, vinos, yogurt, quesos, panes, etc. Pero no solo la industria alimentaria se ha visto beneficiada con los procesos de fermentación, sino también la industria médica, en el desarrollo de antibióticos, medicamentos, entre otros (Puerta, 2010).

La fermentación es un proceso metabólico llevado a cabo por microorganismos, bacterias y levaduras bajo condiciones aeróbicas y anaeróbicas obteniendo energía y dando características físico-químicas controladas, pues es un proceso químico donde se desnaturalizan las moléculas simples, es decir, hay un cambio estructural de las proteínas o ácidos nucleicos, generando en el medio donde se fermenta un cambio de viscosidad, disminución de solubilidad, cambios en color, sabor u olor (Mañay, 2015).

Este es un proceso en el que se favorece intencionadamente el crecimiento de los microorganismos para que consuman una cantidad de sustrato y enriquezcan la mezcla, por medio del cultivo, con los productos de su metabolismo. Este necesita características especiales para poderse llevar a cabo, como la ausencia de oxígeno o, por el contrario, presencia de oxígeno, pero esto irá relacionado al tipo de microorganismo inoculado (Méndez, 2011).

La fermentación (descubierta por Louis Pasteur, quien la catalogó como *la vie sans l'air* -la vida sin aire-) es producida por la acción de enzimas que generan cambios químicos en las sustancias orgánicas. A continuación, se menciona ciertas fermentaciones que se pueden llevar a cabo, con los microorganismos presentes, características de las materias primas, o bien, del medio en donde se produce la fermentación (Neira, 2012).

2.1.1 Fermentación alcohólica

Esta fermentación es una de las más utilizadas en la industria alimentaria, pues produce alcohol etílico. Es importante mencionar que el alcohol es utilizado tanto en la industria de alimentos como en la industria farmacéutica, química, ya que este compuesto es, después del agua, el disolvente y materia prima más utilizado en los laboratorios y en la industria química, obtenido con cualquier azúcar fermentable, por la acción de las levaduras (Jomolca, 2005).

Para la producción de alcohol, se pueden utilizar azúcares simples o complejos, como los almidones hidrolizados y producen los azúcares simples que se fermentan (Aimaretti y Ybalo, 2012). Las bebidas alcohólicas elaboradas en Costa Rica para consumo humano, que se comercializa en mayor volumen en el mercado, reciben el nombre de guaro Cacique (Vílchez, 2021).

2.1.1.1 Parámetros de la fermentación alcohólica

Temperatura: es un factor importante para definir el tiempo de vida de las levaduras, ya que se desarrollan a temperaturas máximas de 30 °C y por encima de los 13 °C y 14 °C, pero la temperatura óptima para su desarrollo durante la fermentación dependerá de la especie de la levadura utilizada, su resistencia y el rango de temperatura óptimo para desarrollar microorganismos. Este factor en ocasiones se puede mantener controlado de acuerdo con el tipo de mosto utilizado.

Las temperaturas críticas de fermentación suceden cuando ya las levaduras no se reproducen y terminan muriendo; esto da como consecuencia una fermentación más lenta, o bien, detiene completamente la fermentación. La cantidad de alcohol etílico que se produce en una fermentación alcohólica puede llegar de un 12 % a 14 %, dependiendo de la naturaleza del medio (condiciones externas e internas) en que se fermenta (Rosero y Regalado, 2016).

Potencial de hidrógeno (pH): esta medida de la acidez en las fermentaciones alcohólicas está entre 4 a 6, pero se puede dar la fermentación sin problema hasta con pH no inferior a 2,6 (Téllez y Peraza, 2012).

Nutrientes necesarios para la fermentación: para el desarrollo de las levaduras es necesario que el mosto cuente con azúcar, minerales, vitaminas. También debe haber disponibilidad de sustancias nitrogenadas para desarrollarse y multiplicarse, en especial, el nitrógeno amoniacal (catión amonio) que es el primer alimento nitrogenado consumido por las levaduras (Ganés y Medina, 2006).

La adición de nitrógeno amoniacal favorece las levaduras, pues este es indispensable para una correcta fermentación y no está contraindicado, añadiendo una porción de 10 g a 20 g de fosfato de amonio por hectolitro (es recomendable realizar esta adición al inicio de la fermentación, ya que así se consume completamente por las levaduras). Una vez que se adiciona, se aumentan las colonias de levaduras y se acelera la fermentación. Por ende, si no hay una disponibilidad apropiada de nutrientes, se ve afectada directamente la velocidad de la fermentación y el rendimiento del crecimiento del organismo (Ganés y Medina, 2006).

Azúcares: es la sustancia principal carbonada, que afecta directamente sobre el volumen de alcohol que tendrá el producto final. Esto en el mosto alcohólico obtenido para una siguiente fermentación acética va de 8 °Brix a 20 °Brix (Rosero y Regalado, 2016).

Impacto de la acidez: en un medio neutro o levemente ácido actúan sin problema las levaduras, así que el medio debe favorecer el desarrollo de las levaduras, pero también ser inapropiado para las bacterias peligrosas, en caso de que la fermentación se detenga (Rosero y Regalado, 2016).

2.1.2 Fermentación láctica

La fermentación de diversos alimentos se utiliza para alargar la vida útil, siendo las bacterias lácticas las encargadas de esta acción. Debido a que estas bacterias acidifican el medio y bajan el pH, se previene el crecimiento de microorganismos patógenos y alteradores. Parte importante del proceso de fermentación es la presencia de las bacterias ácido lácticas, encargadas de producir metabolitos que mejoran notablemente el sabor como ácido láctico, acético y propiónico, así como diacetilo (Malpica y Shirai, 2013).

Por medio del metabolismo del organismo inoculado se obtienen las moléculas de interés (es un proceso levemente exotérmico). Esta fermentación también se practica con el fin de conservar los alimentos evitando su rápida contaminación o descomposición microorganismos patógenos, asimismo, se le atribuye la producción de compuestos beneficiosos para la salud del consumidor, porque el ácido láctico puede mejorar la absorción de calcio, hierro, fósforo y vitamina D (Medina y García, 2014).

Estas bacterias son gram positivas, mesófilas, su temperatura de crecimiento sucede entre 20 °C a 60 °C, con un pH beneficioso para su desarrollo entre 4,0 a 6,5. Para mantener presencia de bacterias ácido lácticas se debe conservar de forma permanente una reserva de energía. En los alimentos, esa reserva se puede obtener mediante los carbohidratos (glucosa), y por medio de la glucólisis se transforma la glucosa en ácido pirúvico, finalmente, debido a este ácido, si los microorganismos son anaerobios, se puede producir, etanol, ácido láctico, ácido acético (Manotoa Betancourt y Calvopiña Toapanta, 2020).

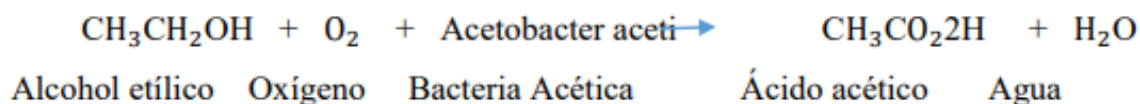
2.1.3 Fermentación acética

El mayor producto obtenido a partir de esta fermentación es el vinagre, ya sea por la fermentación con uvas, manzanas, naranjas, bananos, etc. Gastronómicamente, se usa como ablandador de carnes, acentuador de sabor, agente conservador de alimentos, y hasta en limpieza. Las bacterias acéticas tienen como característica que actúan a bajos pH, la mayoría de las cepas pueden trabajar a valores de pH menores de 5. Son microorganismos poliformes y son aerobios estrictos (Palacios Vallejos y Álcivar Álcivar, 2019).

Los vinagres poseen un 3 % a 5 % de ácido acético disuelto en agua, y en menor proporción se tiene ácido tartárico y cítrico. Las bacterias acéticas del vinagre, miembros del género *Acetobacter* pueden convertir el alcohol etílico (C_2H_5OH) en ácido acético (CH_3CO_2H) por medio de una oxidación (Reyes, 2015).

Figura 1

Transformación de alcohol etílico en ácido acético



Fuente: Reyes, 2015.

2.1.3.1 Metabolismo aeróbico

Las bacterias *Acetobacter acetii* son aerobias estrictas, por lo tanto, el metabolismo respiratorio fermentativo genera ácidos a partir de n-propanol, n-butanol y d-glucosa. Es importante recalcar que esta fermentación no hidroliza la lactosa ni el almidón.

En el vino se encuentra presente el acetaldehído. Este compuesto es resultado de la fermentación acética, debido a la oxidación química del etanol o como metabolito intermedio de la conversión oxidativa del etanol a ácido acético (Gerard, 2015).

También se obtiene la acetoína, compuesto característico acumulado durante el proceso de acetificación, esto se relaciona directamente con la calidad. Algunos vinagres se pueden encontrar en un amplio rango desde 100 mg/L hasta alrededor de 1000 mg/L en vinagres envejecidos.

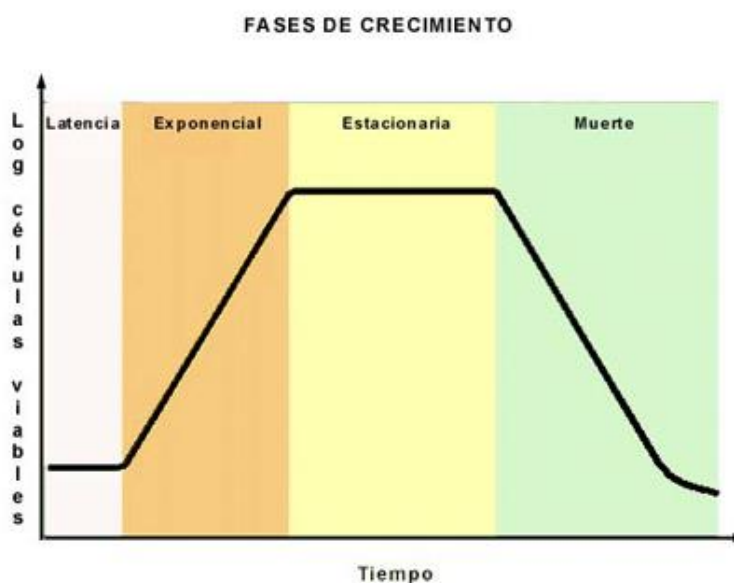
Dentro de los compuestos volátiles de vinagre de vino se encuentran los alcoholes isoamílicos en una fracción abundante. De hecho, constituyen el 6-7 % del total de estos, y en productos con mayor concentración se consideran de más calidad (Rosero y Regalado, 2016).

En el caso de ácido acético y el etanol de los licores forman éster acético volátil, que se detecta por el olor y por el gusto en concentraciones muy inferiores a las del propio ácido acético. La presencia de estas trazas de ésteres contribuye a generar los aromas característicos de los licores (Gerard, 2015).

El logaritmo del peso seco de un organismo unicelular que crece en un cultivo sumergido consta de cuatro fases, desde el tiempo del cultivo (tiempo inicial) representa una curva, con características que dependen del microorganismo inoculado y de las condiciones ambientales.

Figura 2

Curva de crecimiento de microorganismos



Fuente: López, 2016.

Fase de latencia: se da en el tiempo que transcurre desde que se inocula el medio hasta que se dan las primeras señales de crecimiento, la duración dependerá de las características del microorganismo, tamaño, temperatura, el estado de este y las concentraciones de los metabolitos en el nuevo medio (López, 2016).

Fase exponencial: relaciona directamente la velocidad de crecimiento con el valor máximo, constante para un organismo y las condiciones ambientales que indican donde se encuentran los equilibrios de las múltiples reacciones.

Fase estacionaria: representa el periodo de crecimiento nulo, pues se define como el momento en el que el número de microorganismos no varía.

Fase de muerte: es donde el número de células que mueren se va haciendo mayor. Esta fase puede variar su tasa de mortalidad dependiendo al tipo de microorganismo y su resistencia.

2.1.4 Fermentación butírica

La fermentación butírica fue descubierta por Louis Pasteur. Los procesos relacionados con esta fermentación se llevan a cabo por las cepas de *Clostridium*, microorganismos anaerobios, donde los glúcidos se convierten en ácido butírico que forman esporas. Como tal, el *Clostridium acetodutylicum* es el encargrado de la fermentación butírica y de la fermentación *butanolacetona* y el *Clostridiumbutiricum* de la *isopropanilica* (Cajal, 2018).

En el área de tecnología de alimentos, la obtención de ácido butírico por medio de la fermentación no tiene mayor relevancia técnica. Pero en muchos países es utilizada en fermentación butanol-acetona, que va ligada a la fermentación butírica. Esto principalmente en la preparación de n-butanol, utilizado como disolvente, generando así un proceso económicamente rentable (Cajal, 2018).

El ácido butírico formado inhibe el crecimiento de levaduras. Esto se vuelve contraproducente en maltas infectadas, debido a que las esporas del *Clostridium* resisten el calor, y en caso de las industrias alimentarias, el calentamiento por medio de calderas u otros métodos en la aplicación de calor no son empleadas en temperaturas y tiempos óptimos, por lo tanto, los procesos se pueden ver afectados generando la fabricación de esporas que pueden germinar y ocasionar una fermentación butírica, que crean hidrogeno que se mezcla con oxígeno y produce explosiones (Rodríguez, 2018).

En las destilerías de frutas, las maltas y los mostos pueden dañarse por causa del olor del ácido butírico y la inhibición del crecimiento de levaduras.

Figura 3

Reacción global teórica de la fermentación butírica



Fuente: Rodríguez, 2018.

Para obtener ácido butírico por fermentación, no hay una técnica específica, pero en algunas regiones del mundo se aplica la fermentación butanol-acetona, relacionada con la fermentación butírica. La fermentación butanol-acetona ha sido utilizada en técnicas de fermentación, debido a que con ella se resolvió por primera vez el problema de realizar una fermentación anaerobia con cultivo puro.

El producto con la fermentación butírica es un ácido carboxílico, el ácido butírico, un ácido graso de cadena corta de cuatro carbonos, conocido también como ácido n-butanoico. Tiene olor desagradable y sabor acre, pero extrañamente deja un olor dulce en la boca, similar a lo que sucede con el éter (Rodríguez, 2018).

2.2 Microbiología

La microbiología es la parte de la biología que trata de seres vivos microscópicos, tanto de naturaleza vegetal como animal. Debido al efecto de algunos microorganismos como levaduras, es posible el desdoblamiento de los alimentos para la nutrición. Asimismo, hay microorganismos que alteran los alimentos produciendo intoxicaciones en el organismo humano. Al ser tan diversa esta área, también algunos cuentan con la cualidad de inhibir el crecimiento de microorganismos (Ibarra y Hernández Jiménez, 2017).

Así, esta ciencia estudia organismos más pequeños, minúsculos, invisibles a simple vista, se les suele llamar microorganismos o microbios, que data del vocablo griego micro= pequeño, bios= vida y logos= estudio, tratado (Rugrama y Castillo, 2010):

Dependiendo de lo que se le quiera realizar al alimento, se debe establecer tanto el tipo de microorganismo como el microbiota. En el caso de que un alimento se deteriore, las bacterias son de origen patógeno, como en el caso de los lácteos con la estafilocócica que da una toxiinfección alimentaria (Velásquez, 2017).

2.3 Levaduras

Las levaduras son seres vivos, conocidos como hongos unicelulares, que también se pueden encontrar como microorganismos ascomicetos y basidiomicetos, los cuales llegan a reproducirse en estado vegetal por su naturaleza. Esto puede darse por germinación o fisión, pues estos tienen estados sexuales que no forman cuerpos fructíferos, muy utilizadas en el sector biotecnológico e industrial (López y Larralde Corona, 2016).

Estos microorganismos son vitales en la producción de ciertos alimentos y bebidas. Se clasifican dentro de los ascomicetos y basidiomicetos, sin embargo, las levaduras no conforman ningún grupo definido, pues son una unidad taxonómica natural que guarda uniformidad morfológica (Uribe, 2007).

A continuación, en la tabla 1 se mencionan industrias y usos de las levaduras:

Tabla 1*Usos de levaduras en diversas industrias*

Industria	Usos
Fermentaciones tradicionales	Producción de cerveza, vino, sake y salsa soya.
Alimentaria	Producción de enzimas, saborizantes, pigmentos, aminoácidos y ácidos orgánicos.
Biocatálisis	Estudio de farmacéuticos e intermediarios químicos.
Biotecnología ambiental	Aplicación en biorremediación y degradación de contaminantes.
Biocontrol	Protección de cultivos, alimentos y probióticos.
Producción de proteínas heterólogas	Producción de proteínas farmacéuticas, enzimas, hormonas, vacunas y toxinas.
Investigación biomédica	Estudio de biología molecular y celular, genómica, vías de ingeniería y mecanismos de sistemas biológicos Descubrimiento, resistencia y metabolismo de drogas, así como elucidación de mecanismos de enfermedades.

Fuente: Mejía y Montoya, 2016.

2.3.1 Características fisiológicas

Temperatura: las levaduras, por lo general, crecen en un rango de temperatura de 5 °C a 37 °C (se dice que la temperatura óptima para su desarrollo es de 28 °C). Por lo tanto, las levaduras no son microorganismos termofílicos, es decir, resistentes a temperaturas relativamente altas (mayores a 45 °C). Pero la termo destrucción inicia temperaturas de 52 °C, debido a esto las células en fase exponencial son más sensibles a incrementos de la temperatura (Uribe, 2007).

Presión osmótica y actividad de agua: común denominador de las levaduras ha sido que siempre se encuentran en medios con alta disponibilidad de agua. Hay tipos de levaduras, como los osmotolerantes que soportan una actividad de agua de 0,65 Aw, dicho valor no es favorable para los demás microorganismos. La resistencia de levaduras a actividades de agua bajas se debe a la acumulación en la célula de polioles para reducir la diferencia de presión osmótica que hay entre la célula y el medio.

Otro aspecto importante de las levaduras es que crecen en disoluciones con concentraciones de solutos, como azúcares o sales superiores a las que podrían sobrevivir las bacterias. La cantidad de Aw dependerá de las propiedades nutritivas del sustrato, pH, temperatura, disponibilidad de oxígeno, y de sustancias inhibitoras presentes en el medio (Ramírez, 2013).

Oxígeno: las levaduras son aeróbicas, su desarrollo óptimo es en presencia de oxígeno, en conjunto con carbohidratos del medio que producen la biomasa y CO₂. En el caso de se agota o no hay oxígeno, las levaduras se transforman a metabolismo anaerobio o fermentativo, donde se reduce la cantidad de biomasa y se produce alcohol. Las levaduras también se pueden desarrollar en anaerobiosis total. Pero para que sobrevivan es necesario 0,0015 mg de oxígeno por gramo de biomasa para sintetizar esteroides (Rodríguez, 2012).

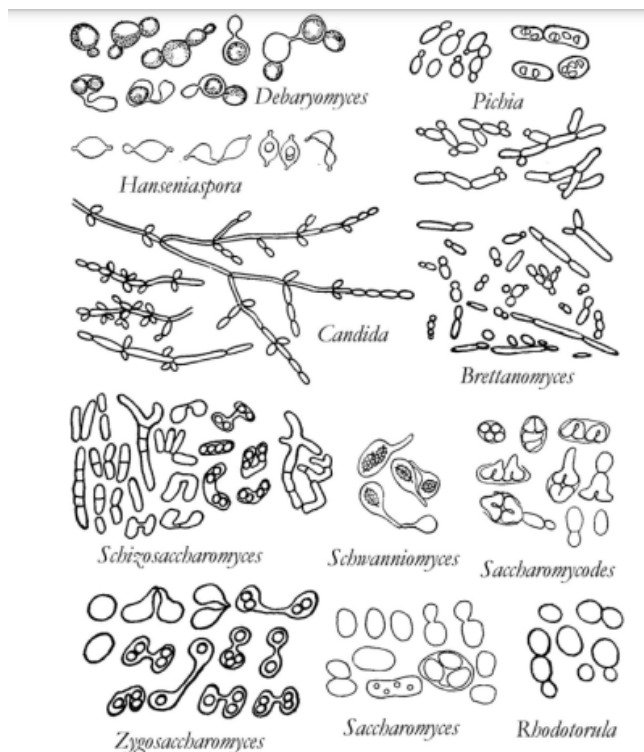
pH: para las levaduras un ambiente óptimo para su desarrollo el pH debe estar entre 4,5 a 6,5 aunque dependiendo de la especie de la levadura puede trabajar en medios más básicos o ácidos.

Nutrientes: para que las levaduras crezcan y se desarrollen correctamente necesitan fuentes de carbono orgánico, nitrógeno mineral u orgánico, vitaminas como; tiamina, ácido pantoténico, biotina, etc. También las levaduras necesitan D-glucosa, D-fructosa y la D-manosa para obtener su alimento y cumplir sus funciones (Nava, 2018).

A continuación, se muestra la ilustración 4 con un esquema de diferentes especies de levaduras:

Figura 4

Especies de levaduras



Fuente: Carrillo y Audisio, 2007.

2.4 Bacterias

Las bacterias forman parte del grupo de microorganismo procariotas, de diferentes tamaños y formas. Las bacterias son seres vivos que tienen relación con todas formas de vida en el planeta (Etecé, 2021), y se reproducen por fisión binaria, replicando simultáneamente su ADN.

Las bacterias se dividen en dos tipos: las arqueobacterias, capaces de vivir en medios ácidos y salinos; y las eubacterias, las cuales poseen peptidoglicano, esto les permite vivir en organismos vivos (Vargas, 2014).

En la industria de alimentos las bacterias son de suma importancia para la elaboración de productos como queso, yogurt y derivadoras, que son resultados de proceso de fermentación láctica (Pérez, 2021).

El crecimiento de bacterias es dirigido por la naturaleza química y física del medio. En el caso de comportamientos de los microorganismos en los alimentos, las interacciones van a ser de forma beneficiosa para la salud y el producto, o bien, hasta puede darse un crecimiento indeseado; el comportamiento bacteriano se ve afectado directamente por la temperatura, el pH, concentración de oxígeno, los solutos y la actividad de A_w .

A continuación, se desarrollan algunas características el comportamiento de bacterias.

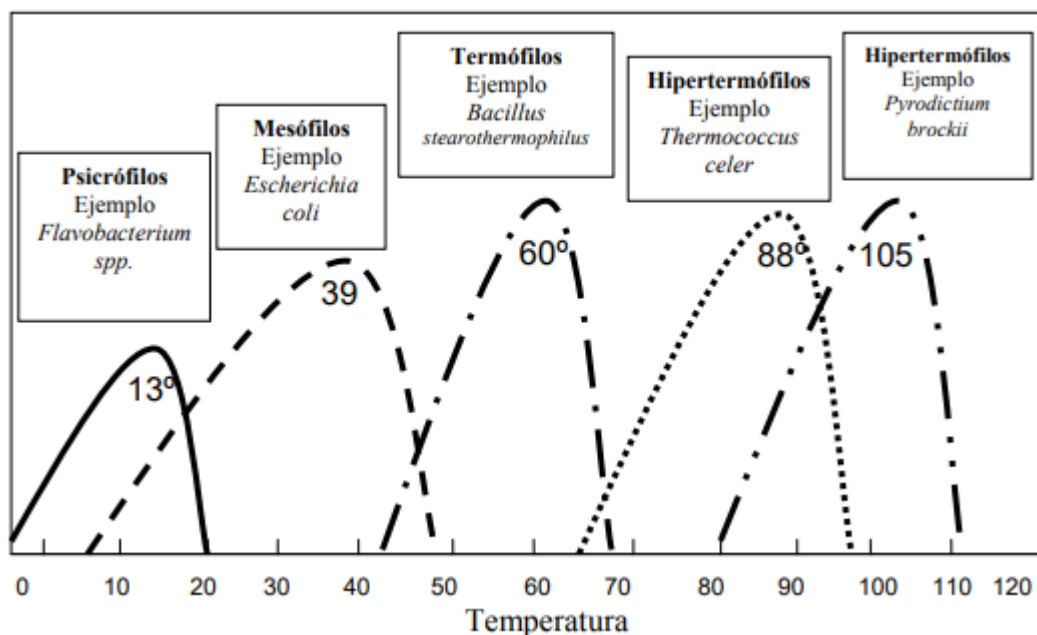
2.4.1 Características fisiológicas

Temperatura: este factor es posiblemente uno de los más críticos y relevantes para lograr obtener un producto alimentario que reúna las propiedades sanitarias y organolépticas correctas. Debido a que la temperatura influye sobre el crecimiento de las bacterias, es sensible a las reacciones catalizadas por las enzimas sometidas a ciertas temperaturas.

Todos los microorganismos en este caso las bacterias, tienen una temperatura mínima en donde no se da un crecimiento prolongado, así también tienen una temperatura optima donde el crecimiento es mucho más rápido, y también tienen una temperatura máxima por encima del cual el crecimiento no es posible; estas tres temperaturas se llaman temperaturas cardinales, que van a variar dependiendo de la especie. La temperatura optima de desarrollo puede variar ya sea por ser y *psicrótrofos*, *psicrófilos*, *mesófilos*, *termófilos*, *hipertermófilos*. A continuación, en la ilustración 5 se muestran, algunas bacterias y sus respectivas temperaturas óptimas (Eduardo, 2007).

Figura 5

Clasificación de microorganismos en función de la temperatura óptima



Fuente: Eduardo, 2007.

En conclusión, las bacterias logan vivir a temperaturas inferiores a los 0 °C, o bien, algunas hasta temperaturas superiores a 65 °C (esto está relacionado directamente a las características de la bacteria). También se puede dar la proliferación de bacterias por la cinética del crecimiento, por factores que afectan al tiempo de generación (g) y por factores ambientales que estimulan o limitan el crecimiento (Taípe, 2018).

Presión osmótica y actividad de agua: la actividad de agua está relacionada directamente con la presión osmótica, pues hasta las bacterias patógenas proliferan más rápido a niveles de A_w de 0,99-0,980. Cuando los valores de A_w son menores a estos, la velocidad del crecimiento y la población estacionaria o la masa celular final disminuye y, por ende, la fase de latencia aumenta.

Cuando el A_w es muy bajo, la fase de latencia se hace infinita, lo cual provoca un cese del crecimiento, los microorganismos se sobre esfuerzan para crecer en el ambiente con A_w bajo, pues deben mantener una concentración interna de solutos elevada para retener el agua existente, esto aplicaría para las bacterias osmotolerantes.

Para las bacterias halófilas, estas se adaptan bien a soluciones salinas con niveles elevados de cloruro de sodio para proliferarse. Estas bacterias han modificado considerablemente la estructura de sus proteínas y membranas acumulando en el interior abundantes cantidades de soluto y potasio para mantener hipertónico su citoplasma.

En el caso de los alimentos, se le aplican diferentes operaciones unitarias que brindan estabilidad, en el aspecto microbiológico, debido a que se deshidratan los alimentos, eliminando agua, o por medio de la aplicación de solutos que se adicionan para disminuir el A_w , y desde los inicios del ser humano se han utilizado como solutos el azúcar y la sal para reducir el A_w , como es el caso de las jaleas.

Oxígeno: algunos microorganismos pueden tener la necesidad de contar con oxígeno para su crecimiento, o por el contrario, no necesitan de oxígeno. Cuando necesitan oxígeno para su crecimiento se les denomina aerobios, y anaerobios los que no requieren de oxígeno para crecer.

Los anaerobios se pueden dividir en facultativos, cuando no requieren oxígeno para crecer, pero lo hacen de mejor manera en presencia de oxígeno; tolerantes, cuando crecen se desarrollan bien en presencia o ausencia de oxígeno; estrictos u obligados, cuando su desarrollo óptimo se da con ausencia total de oxígeno; por último, los microaerófilos que se caracterizan por necesitar oxígeno del 2 % al 10 %, pero que se dañan por el nivel de oxígeno atmosférico.

pH: para que se dé un crecimiento o multiplicación de bacterias, se debe estar en el intervalo óptimo de pH que va de 6.0 hasta 8.5, aunque algunas logan crecer en medios ácidos como 3.0, también pueden crecer en medios completamente básicos como 8.5 o mayor; pero el crecimiento de los microorganismos dependerá del pH de tolerancia límite.

Las modificaciones drásticas del pH pueden llegar a alterar la membrana plasmática o hasta inhibir la actividad de las enzimas y proteínas transportadoras. La mayoría de los ambientes naturales tienen un pH de 5 a 9, y estos parámetros suelen estar dentro del rango óptimo de crecimiento. Muy pocos microorganismos logan crecer en pH inferior a 2, o bien, a pH superior a 10.

Los microorganismos que viven en pH bajo son los acidófilos, como lo son las bacterias *Thiobacillus*. Los microorganismos que viven a pH de 10 u 11 son los alcalinófilos, estos ambientes se pueden dar en lagos con carbonatos, o en suelos carbonatados, las bacterias que podrían sobrevivir a estas condiciones son del género *Bacillus*. Las bacterias, en su sistema para transportar sodio y potasio, realizan modificaciones en el pH, pues si el pH baja hasta 5,5 o 6,0 algunas bacterias sintetizan proteínas nuevas como respuesta a la tolerancia en medio ácido grupos (Caycedo y Corrales, 2021).

Las bacterias realizan biosíntesis de nuevos compuestos celulares, que amerita energía generada por el medioambiente. La energía generada por las bacterias se divide en quimiótrofas, las cuales se aprovechan de las sustancias orgánicas y fotótrofas, cuando se adquiere de la luz. Cuando se depende de la ganancia energética, se dividen en litótrofas, y requieren sustancias inorgánicas como ácido sulfhídrico (H_2S), azufre elemental (S), etc. Para abastecer los requerimientos de su crecimiento, las bacterias se dividen en dos grupos (Caycedo y Corrales, 2021).

Tabla 2

Proceso biosintético para cumplir con el crecimiento de las bacterias

Se utiliza carbono	Requerimientos nutricionales
Autótrofas	Auxótrofas (exógeno)
Heterótrofas	Protótrofas (se autoabastecen)
Mixótrofas	

Fuente: Caycedo y Corrales, 2021.

Las bacterias reaccionan con algunos elementos químicos y la cantidad que se necesite de ellos como lo son los macronutrientes C, H, O, N, etc., y micronutrientes como Co, Cu, Zn, etc.; estos se encuentran combinados en la naturaleza, generando así sustancias orgánicas e inorgánicas.

2.5 Comunidades simbióticas

Las comunidades simbióticas son la interacción biológica en donde dos o más organismos se benefician, es decir, es la relación estrecha y persistente entre organismos de diferentes especies, pero dicha relación es compleja puesto que uno no puede vivir libremente del otro, es una asociación obligada.

La simbiosis es la asociación entre dos o más especies, es decir, viven juntas (esto fue propuesto por Anton de Bary en 1879). La simbiosis también involucra las relaciones parasitarias, comensales, y mutualistas entre diferentes especies, por lo tanto, se pueden dar interacciones perjudiciales y beneficiosas entre especies. Las relaciones simbióticas se pueden clasificar según los siguientes criterios: espacial, tamaño relativo, temporal, necesidad, nutricional, especificidad, efectos nocivos o beneficiosos e integración (Sánchez, 2020).

Años después se incluyeron otros criterios que puede involucrar una simbiosis, como son “la duración, tamaño relativo, contacto físico, especificidad, nutrición, interdependencia, e integración, teniendo como producto las siguientes interacciones: competencia, amensalismo, agonismo, neutralismo, comensalismo y mutualismo” (Sánchez, 2020).

Dentro de las comunidades simbióticas beneficiosas para la salud humana, mediante el consumo de productos elaborados con este tipo de microorganismo, se encuentra el kéfir de leche, el kéfir de agua y la kombucha.

La kombucha se caracteriza por generar biomasa visible. Cada comunidad simbiótica posee un nombre característico, en el caso de la kombucha se le conoce como SCOBY, hongo característico compuesto de bacterias y levaduras, por sus siglas en inglés (Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeast); pero también se le conoce como té de kombucha, que forman una colonia macroscópica plana en la solución del té, dentro de una matriz celulósica compuesta de diferentes grupos de bacterias acéticas (Tellez y Vázquez, 2018).

En el caso del kéfir se conoce a la biomasa generada por los microorganismos como nódulos/búlgaros/tibicos. Son masas gelatinosas compactas, de color amarillento o blancuzco, con tamaños y formas irregulares, constituidos principalmente por agua, bacterias y levaduras (Herrera, 2008).

2.5.1. Kéfir de agua

El origen de este aún no se conoce con claridad, pero se solían llamar plantas de cerveza de jengibre que los soldados ingleses importaron de la guerra de Crimea en 1855. También se conocían “granos Tibi” a los que se obtenían del cactus (Opuntia) en México, otros nombres son “abejas de California”, “abejas africanas”, entre otros, pero finalmente se optó por llamarlo kéfir azucarado, para diferenciarlo del kéfir de leche (Monar y Dávalos, 2014).

El kéfir o búlgaros están compuestos por una mezcla de bacterias probióticas y levaduras en una matriz de proteínas lípidos y azúcares, de donde se puede obtener una bebida fermentada elaborada de manera artesanal que se consume en México y Brasil. Esta bebida fermentada se basa en una solución de sacarosa a una concentración entre 3 % a 10 %. Para mejorar el sabor se suele adicionar frutas frescas, como limones, o secas, como higos, dátiles, etc. (Monar y Dávalos, 2014).

El diámetro de estos tibicos puede ser de 5 mm a 20 mm, de apariencia transparente con leves tonos cafés y estructura elástica. Los tibicos generan la fermentación, producen una bebida carbonatada ligeramente coloreada, con sabor ácido por la producción de ácido láctico y ácido acético, leve sabor azucarado y también una baja concentración de alcohol, que no supera el 2 % (v/v) (Arana y Yanos, 2017).

Para el kéfir azucarado o kéfir de agua, según Herrera (2008), las bacterias presentes en los tibicos son *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei subsp. Casei*, *Lactobacillus casei subsp. Rhamnosus*, *Lactobacillus casei subsp. Pseudopantarum*, *Lactobacillus casei subsp. Tolerans*, *Lactobacillus casei subsp. Torquens*, *Lactobacillus fructosus*, *Lactobacillus alactosus*, *Lactobacillus hilgardii*, *Lactobacillus homohiochi*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus pseudopantarum*, *Lactobacillus yamanashiensis*, *Streptococcus / lactococci*, *Streptococcus cremoris*, *Streptococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides*. En el caso de las levaduras son *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces florentinus*, *Saccharomyces pretoriensis*, *Candida valida*, *Candida lambica*, *Kloecker apiculata*, *Hansenula yalbensis* (Bravo, 2018).

Los beneficios que se le atribuyen al consumo de la bebida fermentada de kéfir en agua son mejorar la flora intestinal, fortalecer el sistema inmune, propiedades antibióticas, reducir el colesterol y la presión arterial, puede ser consumido por personas veganas, entre otros (Fernández Pérez, 2017).

A continuación, se muestra la composición que tiene 1 L de kéfir de agua:

Tabla 3

Composición por litro de Kéfir

Calorías	13,37
Hidratos de carbono (g)	3,095
Proteínas (g)	0,18
Fibra (g)	0,67
Potasio (mg)	55,95
Hierro (mg)	0,21
Magnesio (mg)	4,9
Calcio (mg)	12,5
Vitamina C (mg)	2,55
Niacina (mg)	0,04

Fuente: Ortega, 2014.

2.5.2. Kombucha

La kombucha está compuesta en una colonia simbiótica de distintas especies de bacterias y levaduras. Existen dos variedades de té, que son *Camellia sinensis* var. *sinensis*, procedente de zonas montañosas situadas entre China e India y *Camellia sinensis* var. *assamica*. Estos productos han sido consumidos desde el año 220 a. C. (Iliana, 2007).

El hongo del té es un conjunto de diferentes especies de bacterias y levaduras inmersas en una matriz de celulosa. La kombucha tiene un sinnúmero de beneficios, entre ellos, es rica en probióticos, antibióticos naturales, contiene antioxidantes, reduce el riesgo de enfermedades cardiovasculares, beneficios para la diabetes tipo 2, etc. (Cristina, 2007).

Los SCOBY de kombucha son una asociación simbiótica, es decir, su composición se basa en bacterias y levaduras, pero quienes dominan son los géneros bacterianos como *Bacillus* sp. *Acetobacter tropicalis*, *Gluconacetobacter saccharivorans*, *Micrococcus* sp., *Gluconacetobacter rhaeticus*, *Paenibacillus taichungensis*; todos los anteriores contribuyen a la producción de ácido acético y al desarrollo de una biopelícula rica en celulosa (González, 2018).

La kombucha también se compone de grandes grupos de levaduras, como *Brettanomyces bruxellensis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces* sp. *Candida* sp. Tanto las bacterias anteriormente mencionadas como las levaduras se activan y reproducen en un medio líquido azucarado y té negro (González, 2018). En el caso de la kombucha, para que la fermentación se dé correctamente, debe hacerse en un rango de 21 °C a 28 °C, el pH de la bebida final debe estar de 2,5 a 3,00 (Aedo, 2011).

2.6 Frutas tropicales

Las frutas tropicales están compuestas en su mayoría por agua y son la fuente más importante de vitaminas, sales minerales, elementos fitoquímicos (flavonoides y carotenoides) y fibra (en su mayoría soluble). Ayudan al organismo a controlar excesos en los niveles de colesterol, gasa, generando mejor funcionamiento del aparato intestinal. Estos alimentos también tienen propiedades antioxidantes, pues combaten los radicales libres generados en el cuerpo y previenen los efectos secundarios oxidativos en las células del cuerpo humano.

Estas frutas, además de dar un aporte beneficioso en la salud del consumidor gracias a sus nutrientes, brindan una variedad exuberante de olores, sabores, colores exóticos, que día a día son más aceptados por los consumidores en el mundo. Se debe conocer que los países productores de estas frutas tienen en ocasiones grandes pérdidas económicas, por la mala distribución y también por los limitados tiempos de maduración, por ende, una corta vida útil en los supermercados dificultando el proceso de exportación (Cárdenas Baquero y Arrazola Paternina, 2015).

Costa Rica por tener un clima húmedo tropical, cuenta con una diversidad amplia variedad de hortalizas, frutas, verduras, ya que, a pesar de ser una zona geográfica limitada, sus microclimas favorecen el cultivo de estos vegetales. Las frutas tropicales más producidas en Costa Rica, según FAO (2019) son piña, papaya, banano y mango.

2.6.1. Piña

La planta de piña es una monocotiledónea, herbácea y perenne, originaria de América del Sur, de la zona de Matto Grosso, entre Uruguay y Brasil. La inflorescencia posee entre cien y doscientas flores colocadas en forma de espiral, fusionadas con el eje central. La floración se mantiene entre treinta y sesenta días aproximadamente, para obtener en la cosecha el fruto madurado, se estima que tarda 135 días después de haber surgido la flor. Dependiendo de la especie de piña que se cultive, el fruto tendrá forma cilíndrica o piramidal, su peso también depende de la especie que sea.

El nombre científico de la piña es *Ananas comosus*, pertenece a la familia *Bromeliaceae*. Se clasifica como una planta de origen tropical, en América del Sur. La piña es una fruta infrutescencia carnosa o fruto compuesto resultado de la agrupación de pequeños frutos de numerosas flores individuales. Una ventaja que posee la piña, dentro de sus propiedades nutricionales es el contenido de gasa, ya que es mínimo (2 %), el valor calórico es moderado y un alto contenido de vitamina C (Zambrano, 2017).

A pesar de ser una fruta perenne, las cosechas realmente rentables en Costa Rica se dan en un periodo de tiempo estimado de dos años y medio. El país la exporta a Estados Unidos y Europa y para producir esta fruta, los cultivos deben realizarse en elevaciones de 900 msnm, necesita temperaturas entre 23 °C y 30 °C, cuando las temperaturas del ambiente son menores o mayores a lo mencionado anteriormente, el cultivo se ve afectado, tanto en el desarrollo de la planta como en la calidad del fruto.

La piña absorbe el agua de la humedad atmosférica, lo que en las épocas secas caracteriza la falta de agua durante la siembra, o bien, en el inicio de la formación de la flor y de la fruta, retarda el crecimiento y reduce el tamaño del fruto; por el contrario, cuando hay exceso de agua, la calidad de fruto es pobre, el contenido de azúcar es bajo y la acidez alta (MAG, 2019).

Se tiene establecido por la FDA, que la piña es una buena fuente de macro y micronutrientes como una porción de alimentos que tiene 10 % a 19 % de la ingesta adecuada o dosis diaria recomendada para cada nutriente, tomando en cuenta que es una buena fuente de vitaminas como vitamina C, tiamina y riboflavina, en el caso de los minerales sería potasio, calcio y magnesio (Hernández Ramírez y Ortega Ibarra, 2021).

Además del gran auge que se viene dando en los últimos años por la piña convencional, la modalidad de la Agricultura orgánica también está abarcando un nicho de mercado que viene en ascenso debido al estilo de vida saludable que muchas personas están optando para tener una calidad de vida más favorable.

A continuación, se describe un poco en que consiste la agricultura de piña orgánica.

2.6.1.1. Agricultura orgánica

Para que un producto se pueda declarar como orgánico debe cumplir con un sistema de producción que consiste en utilizar al máximo los recursos de la finca donde se cultive y la prioridad sea la fertilidad del suelo y la actividad biológica en conjunto, se debe disminuir lo que sea posible el uso de recursos no renovables y no utilizar fertilizantes y plaguicidas sintéticos por ningún motivo, pues esto afecta al medioambiente y a la salud humana (FAO, s.f.).

Es vital para que una producción se declare orgánica, ya sea para animales o cultivos, contar con una certificación que lo valide, la cual tiene requisitos relacionados con el período de transición de la finca, es decir, es el tiempo en el cual esta finca debe utilizar métodos de cultivo y producción orgánicos, para poder optar por una certificación, el cual es de 2 a 3 años previos. Los agricultores deben tener métodos de mejoramiento de las plantas, mantener la fertilidad del suelo, métodos para el reciclaje de materias orgánicas, de labranza y para conservar el agua, etc. (FAO, s.f.).

Las certificaciones generalmente las brindan empresas privadas. En el caso de Costa Rica, cuenta con sus propias reglas, pero si los productos orgánicos de Costa Rica se quieren exportar, deben las empresas cumplir con los requisitos de etiquetados orgánico de los países a los que se enviará el producto. Existen cuatro tipos de esquemas de certificación que depende de quien elabore las normas y supervise el proceso:

Certificación por primera parte: la propia empresa se autoimpone cumplir ciertas normas y estándares. Esta puede generar incredulidad, debido al conflicto de intereses que se pueden dar en la organización.

Certificación por segunda parte: la creación de certificaciones, o bien, la verificación de su cumplimiento por parte de una organización de la industria.

Certificación por tercera parte: requiere de un actor externo, en general por una ONG, que indica sus normas y estructuras de cumplimiento sobre un sector productivo, estas se conocen por ser estructuras más participativas y transparentes.

Certificaciones por cuarta parte: estas son dirigidas por gobiernos o por organismos multilaterales.

El ámbito de la Agricultura orgánica a nivel legal en Costa Rica se basa por tres leyes y tres decretos ejecutivos en donde indican los elementos conceptuales e institucionales que abarca la Agricultura orgánica. En la tabla 4 se muestran las leyes y decretos que involucran.

Tabla 4

Marco normativo de la Agricultura orgánica en Costa Rica

Normativa	Descripción
Ley Orgánica del ambiente N° 7554. Publicada en La Gaceta N° 101 del 27 de mayo de 1998.	Establece que la Agricultura ecológica es sinónimo de orgánica o biológica, y que esta es la que emplea métodos y sistemas compatibles con la protección y el mejoramiento ecológico sin emplear insumos o productos de síntesis química, así como que el Estado promoverá la Agricultura orgánica, como actividad complementaria a la Agricultura y la agroindustria tradicional. Esta ley indica que para calificar un producto como ecológico, deberá tener una certificación otorgada por una agencia nacional o internacional acreditada ante el Estado costarricense.
Ley de Protección fitosanitaria N° 7664. Publicado en la Gaceta N° 83 del viernes 2 de mayo de 1997.	Menciona que el Servicio Fitosanitario del Estado llevara el registro de los productos y procesadores de vegetales e insumos orgánicos y supervisara el cumplimiento de los procedimientos establecidos. Asimismo, podrá emitir los certificados de Agricultura orgánica o acreditar, para que los extiendan, a personas físicas o jurídicas que demuestran idoneidad, conforme a la Ley Orgánica del Ambiente.
Decreto Ejecutivo: Reglamento de Agricultura Orgánica N° 29782-MAG. Publicado en La Gaceta N° 179 del 18 de setiembre del 2001.	Tiene como finalidad establecer directrices tendientes a regular la producción, elaboración y comercialización de productos agropecuarios orgánicos en Costa Rica, así como definir la normativa para las diferentes etapas de los procesos de producción y certificación de estos.
Ley de Desarrollo, Promoción y Fomento de	Esta ley tiene como objetivo asegurar el cumplimiento de los objetivos de desarrollo, promoción, fomento y

la Actividad Agropecuaria Orgánica N° 8591. Publicada en la Gaceta N° 155 del 14 de agosto del 2007.	gestión de la actividad agropecuaria orgánica, fortalecer los mecanismos de control y promoción de los productos derivados de la actividad agropecuaria orgánica, así como procurar la competitividad y rentabilidad de dichos productos.
Decreto ejecutivo: Reglamento a la Ley 8591 sobre Desarrollo, Promoción, y Fomento de la Actividad Agropecuaria Orgánica 35242-MAG-H-MEIC. Publicado en La Gaceta N° 107 del 4 de junio del 2009.	Este decreto constituye el Reglamento a la Ley N° 8591 del 14 de agosto 2007, para el Desarrollo, Promoción y Fomento de la Actividad Agropecuaria Orgánica.
Decreto ejecutivo: Reglamento de la estructura Organizativa del Servicio Fitosanitario del Estado N° 36801-MAG. Publicado en la Gaceta N° 198 del 14 de octubre de 2011.	Establece que las funciones asignadas al Servicio Fitosanitario del Estado (SFE) o la Dirección deben ser asumidas por la Unidad de Acreditación y registro en Agricultura Orgánica del Departamento de Operaciones Regionales.

Fuente: López Peña y Mora Vega, 2018.

2.6.1.2 Piña orgánica

El interés por tener un estilo de vida saludable, junto con la responsabilidad ambiental, hace que los alimentos orgánicos frescos y procesados vayan en aumento en el mundo. Así, entre los años 2011 a 2017 la producción de alimentos orgánicos se elevó a una tasa promedio anual de 36 %. Las ventas para el 2017 crecieron más de 11 % con respecto al 2016 alcanzando los \$103.917 millones (PROCOMER, 2020).

La piña orgánica se comercializa como una solución ideal para el consumidor de la mano con el medioambiente, pues se asocia al cuidado de la piel debido al 87 % de agua que posee, su composición es rica en vitaminas y nutrientes, también cuenta con alfa-hidroxiácidos y beta-hidroxiácidos (Machado, 2014).

Según Machado (2014), el cultivo de piña orgánica busca promover cultivos limpios y sostenibles, donde es vital cuidar el ecosistema y los recursos naturales; son fuente de alto valor nutricional, promueven la protección contra plagas y enfermedades, la preparación de la tierra y sus prácticas de forma preventiva. Los grados Brix van de 12 a 15 como máximo; la acidez va de 0,6 a 1,2; la piña de primera calidad tiene un peso mayor a 1,4 kg, la de segunda calidad va de 1 a 1,399 kg y, por último, la de tercera calidad es menor a 1 kg.

2.8 Residuos

Los residuos son toda aquella sustancia o elemento sólido que se abandona, rechaza o entrega (Jaramillo y Zapata, 2008). Los residuos se dividen en:

2.8.1 Residuos no peligrosos

Se producen en cualquier lugar, varían de la actividad en donde se desarrollan, pero no representan un riesgo a la salud humana y el medioambiente.

Reciclables: no se descomponen con facilidad, por lo tanto, se pueden volver a utilizar, ya sea en procesos productivos o hasta como materia prima, por ejemplo, telas, vidrio, chatarra, partes o equipos obsoletos o en desuso, papeles y plásticos (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2018).

Biodegradables: son los restos de químicos o naturales que se descomponen o desintegran con facilidad en el ambiente, por ejemplo, papel higiénico, residuos de alimentos no infectados, vegetales, jabones y detergentes biodegradables, madera; o cualquier otro residuo que se pueda desintegrar con facilidad en materia orgánica (Florían, 2015).

2.9 Residuos de alimentos

Los residuos alimentarios se producen en cada fase de la cadena de producción y de suministro, así como en la fase de consumo. Estos residuos se pueden generar por diversos factores; como la legislación que aplique en los países donde el producto es comercializado, para ofrecer productos inocuos al consumidor. También va sujeto a la relación con las tendencias, preferencias o hábitos de consumo.

En el mundo, aproximadamente un cuarto y un tercio de los alimentos que se producen cada año para el consumo de los seres humanos se pierden o se desperdician, llegando a más de 1300 millones de toneladas de alimentos en un año. Aproximadamente, de cereales se pierde el 30 %, entre el 40 % y 50 % de las raíces, frutas, hortalizas y semillas oleaginosas, el 20 % de la carne y productos derivados de lácteos, y el 35 % de los pescados. Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), los residuos antes mencionados podrían alimentar a 2000 millones de personas (Benítez, s. f.).

El 78 % de las 4000 toneladas diarias de residuos son recolectados por municipalidades, que equivalen a 3120 toneladas diarias, pero se desconoce el paradero de 234 toneladas del 22 % restante de residuos, se cree que una porción de estos se trata adecuadamente en su propio sitio de origen, mediante el compostaje, como es el caso de algunas industrias alimentarias que tienen su propio programa de gestión de residuos, de acuerdo con la ley creada en el 2010 por la Asamblea Legislativa de la República de Costa Rica.

En Costa Rica, se producen todos los días alrededor de 4000 toneladas de residuos, unos 0,8 Kg de residuos por habitante por día. Esta cantidad de residuos ha ido aumentando con el tiempo, pues en 1991 Costa Rica producía 1400 toneladas de residuos diarios, para el 2006 aumentó a 3784 toneladas, y para el 2014 ya se producían 4000 toneladas por día. Esto es relacionado directamente con el crecimiento de la población, y también al consumismo desmedido y sin conciencia que se ha generado por el capitalismo (Vicente, 2020).

Las empresas procesadoras deben aplicar Ley para la Gestión Integral de Residuos N°8839, la cual establece que los entes generadores de residuos necesitan contar con planes para una gestión Integral de residuos en Costa Rica (Peralta y Campos Rodríguez, Escuela Agonegocios, 2017).

Parte importante de residuos generados en la industria alimentaria se originan en las plantaciones de piña, pues se dice que en Costa Rica se produce anualmente 4,28 millones de toneladas de desechos de esta fruta. En caso de no tratarse correctamente, estos residuos podrían producir malos olores, proliferación de plagas, incluso enfermedades.

Los costos relacionados a su manejo van de \$1000 a \$2500 por hectárea y esto puede variar dependiendo del manejo que se aplique. La cantidad de residuos generados por esta industria son elevados, pues Costa Rica se posiciona como líder en exportación de piña fresca. El rastrojo, es decir, desecho orgánico resultado del cultivo de piña, se da de los 14 a 16 meses, esto para la primera cosecha; pero en el caso de la segunda cosecha estos residuos se pueden generar de los 27 a 29 meses (Solis, 2020).

De acuerdo con Bonilla (2018), en una investigación realizada por la Universidad de Costa Rica, una hectárea cultivada con piña, que posea 60 000 plantas, puede generar aproximadamente 210 000 kg de rastrojo, el cual está compuesto de 13 500 kg de corona y 51 083 kg de cáscara y pulpa, dando un total de 274 583 kg remanentes que se pueden utilizar en forraje para animales, o bien, en el desarrollo de alimentos para humanos.

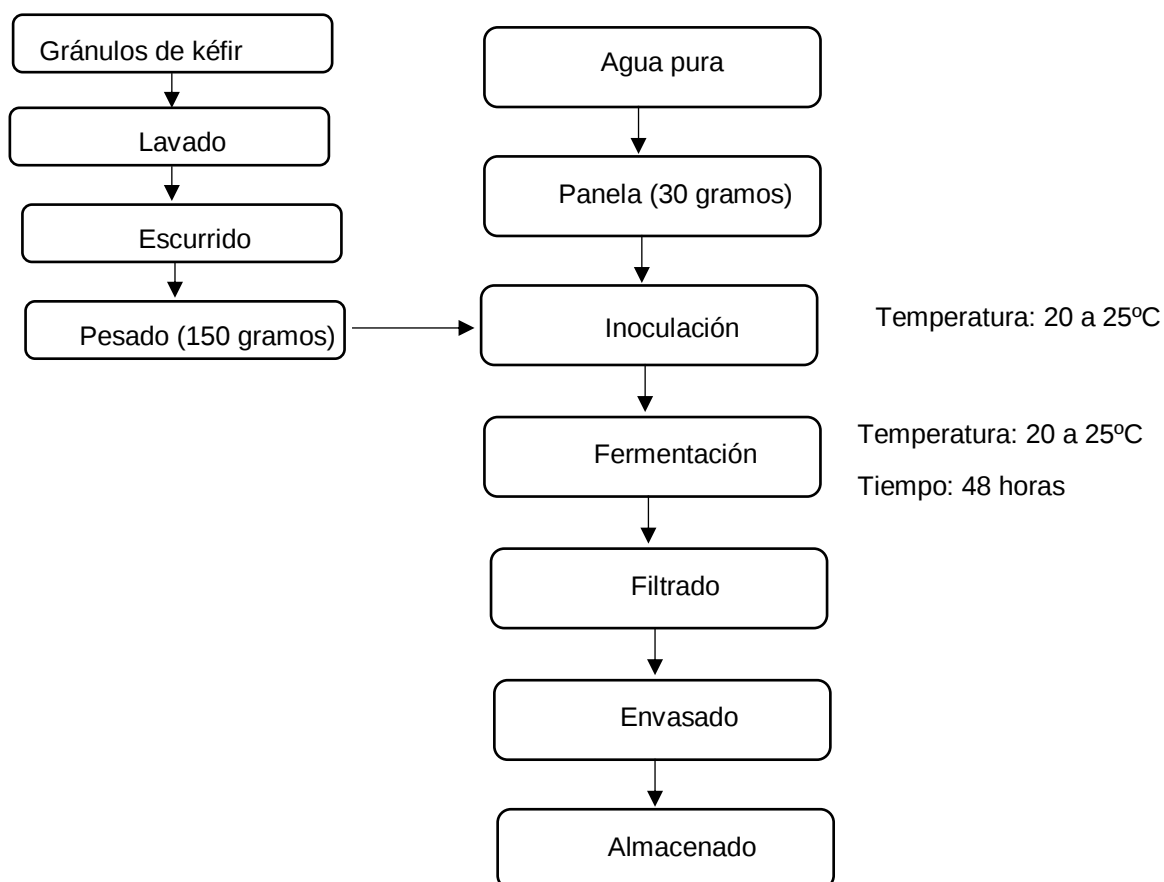
A continuación, se describen los diferentes diagramas de fluido que pueden aplicarse haciendo uso de comunidades simbióticas, en diferentes áreas de la industria alimentarias:

2.10 Diagrama de flujo del proceso de kéfir de agua

A continuación, se muestra el proceso que se emplea para la elaboración del kéfir de agua, en donde se aplican dos fermentaciones: la primera se hace con el fin de generar el crecimiento de microorganismos beneficiosos para el cuerpo humano, y la segunda se realiza para aplicar una fruta que aporte sabor y haga de la bebida un producto agradable al paladar del consumidor.

Figura 6

Diagrama de flujo del proceso de elaboración de una bebida fermentada a base de kéfir de agua



Fuente: Ortega, 2014.

Según la ilustración 6, se procede primero a la adición de panel (tapa de dulce) con el agua, una vez que todo se diluye se hace la inoculación con el kéfir. Para agregar el kéfir se deben lavar y escurrir los tibicos, esto para evitar que lleven algún residuo de una fermentación previa, luego se pesa la cantidad necesaria para la fermentación. Adicionados los granos de Kéfir, se dan 48 horas para su respectiva fermentación procurando mantener la temperatura del líquido de 20 °C a 25 °C.

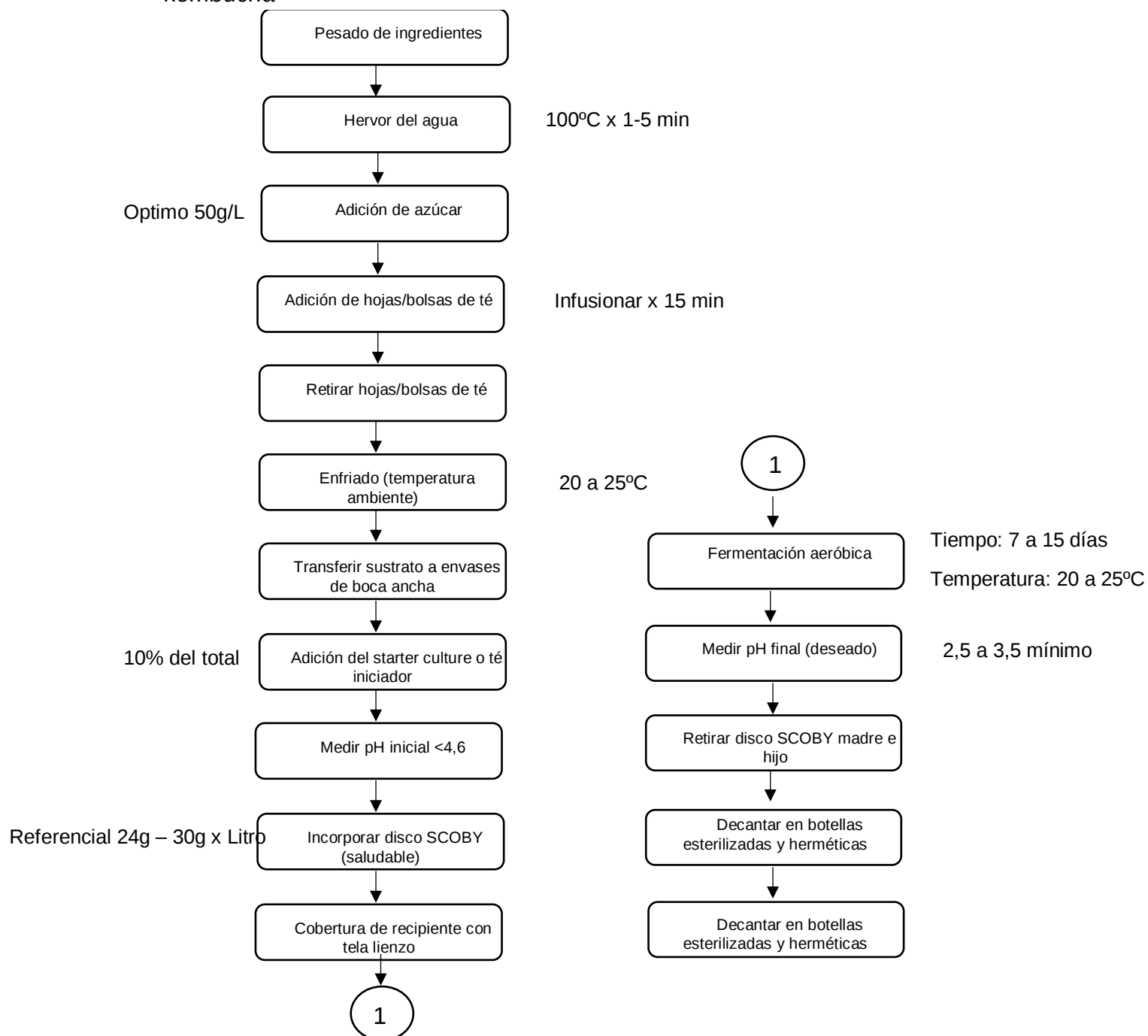
Una vez transcurridas las 48 horas, se procede a filtrar la bebida, removiendo los tibicos, y dejando solo el líquido, para luego envasarlo y sellarlo, por último, esta bebida debe almacenarse de 0 °C a 5 °C para mantener sus características organolépticas dentro de lo aceptable y esperado de dicha bebida; y también para evitar que la fermentación continúe y se convierta una bebida con un pH muy ácido.

2.11 Diagrama de flujo del proceso de kombucha

En el siguiente diagrama de flujo se describe el proceso para elaborar kombucha, proceso similar al kéfir de agua, solo que con la elaboración de la kombucha el tiempo de fermentación es mayor. En este tiempo de fermentación para que se dé una correcta alimentación de microorganismos y, por ende, obtener un producto que cumpla con lo indicado en la legislación, debe aplicarse té para que el SCOBY pueda actuar correctamente.

Figura 6

Diagrama de flujo del proceso de elaboración de una bebida fermentada a base de kombucha



Fuente: Valarezo y Vizhñay, 2021.

En la ilustración 7, se da la descripción de este proceso, basándose en información compilada de un diagrama de flujo en la industria de alimentos: pesar cada ingrediente de acuerdo con la formulación establecida. Luego se debe hervir el agua, mientras se está dando la ebullición se procede con el paso de la adición de azúcar para una dilución homogénea de esta materia prima. Para realizar el paso de la infusión con el té, se debe dejar por 15 minutos, para obtener las propiedades de dicho producto. Finalmente, se retiran las bolsas de té para dejar solo el líquido.

Siguiendo con la ilustración 7, se trasvasa el líquido a un envase de vidrio, con boca ancha para introducir el SCOBY correctamente, después se adiciona el té iniciador, esto ayuda a generar una acidez inicial, disminuyendo la probabilidad de descomposición por agentes externos. Luego se mide que el pH se encuentre menor a 4,6, para evitar el crecimiento de microorganismos patógenos. Después se añade el SCOBY para iniciar la fermentación aeróbica.

A continuación, se debe tapar la boca del recipiente con tela de lienzo, para la respiración celular de la microbiota y evitar el ingreso de insectos, o bien, microorganismos indeseados. Esta fermentación se da de 20 °C a 25 °C, de 7 a 15 días; la fermentación a 7 días genera una bebida con tonos más dulces, mientras que a los 15 días la bebida tendría sabor más avinagrado y ácido. La bebida final debe estar con un pH de 2,5 a 3,5; pues si no está dentro de ese rango puede contaminarse de microorganismos patógenos y no ser segura para su consumo. Finalmente, se retiran los SCOBY.

Así que, por último, se trasvasa el líquido a botellas aptas para el almacenamiento de alimentos. Una vez que se envasa y sella se debe almacenar en refrigeración (de 0 °C a 5°C), evitar romper la cadena de frío para mantener controlada la fermentación, pues la bebida al poseer microorganismos vivos puede continuarla de forma acelerada en caso de romperse esta cadena.

2.12 Barreras microbiológicas

Para evitar el deterioro de la calidad de los alimentos se aplican técnicas de conservación. El origen del deterioro de los alimentos puede tener distintas causas, entre ellas la carga microbiana o variedad de reacciones físico-química que se presenta después de la cosecha. Parte de la conservación de alimentos se encarga de exponer a los microorganismos a un medio hostil con el objetivo de prevenir o retardar su crecimiento (Morales, 2012).

Es importante mencionar que la homeostasis de los microorganismos es la estabilidad interna, pues si se da una interrupción por factores de conservación, como lo es la aplicación de una barrera, los microorganismos no se proliferan y se mantienen controlados; dependiendo de la barrera que se aplique, los microorganismos pueden morir.

Es recomendable aplicar varias barreras en conjunto para afectar los diferentes puntos de las células de los microorganismos, actuando sinérgicamente con el fin de destruir las bacterias de deterioro o cualquier otro microorganismo que ponga en riesgo la salud de los consumidores (Fuente y Barboza, 2010).

Algunas barreras que se pueden aplicar en los alimentos son:

- Aplicación de calor, altas temperaturas
- Aplicación de frío, bajas temperaturas
- Control de la actividad de agua (A_w)
- Acidez (pH)
- Potencial redox
- Microorganismos beneficiosos, competitivos (bacterias ácido lácticas)
- Adición de conservantes (nitritos, sulfitos, etc.)

2.13 Buenas Prácticas de Manufactura

Las condiciones de la infraestructura y procedimientos para la elaboración de carácter alimentario deben ser de calidad e inocuidad y que cumplan con normas aceptadas internacionalmente, esa es la importancia de las buenas prácticas de manufactura (Díaz y Uría, 2009).

En cualquier industria en la que se realicen operaciones siempre se van a tomar en cuenta las buenas prácticas de manufactura en el procesamiento de alimentos, pues históricamente se ha vuelto necesidad respetar parámetros que garanticen el cumplimiento de medidas, lineamientos y condiciones estrictas para garantizar alimentos y procesos seguros, por ende, inocuos, pues debido a eventos graves relacionados con la falta de inocuidad, pureza y eficacia de alimentos y medicamentos; se determinó como necesidad establecer y ejecutar medidas reglamentarias a cumplir.

En el Manual de buenas prácticas de manufactura se describen técnicas que se pueden aplicar en el procesamiento de alimentos para garantizar su inocuidad y su aptitud, y para evitar su adulteración (Díaz y Uría, 2009).

2.14 Inocuidad de alimentos

Cuando una persona ingiere un alimento, este no debería causarle daño alguno al consumirlo. “Es la garantía de que un alimento no causará daño al consumidor cuando el mismo sea preparado o ingerido de acuerdo con el uso a que se destine” (OPS, 2020). La industria alimentaria cumple un papel sumamente importante a razón del deber de vigilar desde el momento en que cosecha el alimento hasta cuando la persona va a consumir el producto, con el fin de que el consumidor no sufra ningún daño a su salud.

2.14.1 Vida útil

Se conoce como vida útil al lapso máximo en que un alimento puede ser consumido, manteniendo sus límites en rangos aceptados en características organolépticas (sabor, aroma, textura, aspecto), microbiológicos y nutricionales.

2.15 Análisis sensorial

Es utilizada en todas las actividades propias de la ciencia y la tecnología de los alimentos, como son la investigación y desarrollo de productos, control de calidad, evaluación de cambios en materias primas, proceso y hasta determinación de vida útil. Atributos que se pueden evaluar son la apariencia, color, el aroma, sabor y la textura, dependiendo del tipo de alimento (UCR, s.f.).

Actualmente, el análisis sensorial es utilizado constantemente en la industria alimentaria, pues consiste en establecer los atributos principales de los alimentos, generando así un perfil según las expectativas que se tengan de acuerdo con productos o alimentos en el mercado, con características similares desde el punto de vista técnico “por medio de sus características organolépticas (color, olor, sabor, textura)” (Ávilaz y González, 2011), haciendo uso de los sentidos del organismo humano. También, mediante esta práctica se pueden realizar mejoras a las formulaciones con el fin de orientarse para mayor aceptación en el mercado.

Para crear un perfil de sabor, o bien, realizar alguna prueba sensorial, se deben considerar los sentidos de los seres humanos, “el olfato, la vista, el gusto, el tacto y el oído”, debido a los atributos que logan percibir, pues y cada uno de ellos está ligado a un órgano receptor encargado de identificar la sensación percibida (Mafugás, 2007).

Anteriormente, se mencionaron los sentidos, los cuales facilitan la percepción de múltiples características que cuenta cada alimento y se encargan de identificar el nivel de agrado o desagrado que pueden generar los alimentos, de acuerdo con las cualidades percibidas por cada consumidor. Asociado a esto, también se encuentran sabores percibidos al consumir un alimento, esto por las moléculas sápidas (encargadas de generar el sabor en los alimentos) (Vera, 2015).

2.16 Panel Sensorial

Este panel cuenta con diferentes pruebas sensoriales en las cuales participan diferentes jueces, se clasifica el tipo de análisis, pueden ser personas con conocimiento nulo en tema, o bien, expertas. El lugar donde se lleva a cabo debe cumplir ciertos requisitos, sin distracciones y sin alcanzar a observarse la preparación de la muestra. Se debe ser cuidadoso a la hora de elegir la prueba, además de cómo se presenta la muestra, por el motivo que puede repercutir en el análisis (Hernández, 2005).

2.16.1. Pruebas sensoriales

Son métodos confiables que tienen normas establecidas, en donde se puedan realizar evaluación sensorial con resultados, en el caso de errores el margen debe ser menor, en el caso del error estímulo y error lógico se debe evitar diferentes al máximo que se pueden observar a simple vista. Las pruebas sensoriales se dividen en 3 grupos; afectivas, discriminativas y descriptivas (Hernández, 2011).

2.16.1.1 Pruebas afectivas

Son aquellas en donde el panelista expresa su reacción subjetiva ante la muestra dada, indicando si le gusta o le disgusta, si lo acepta o lo rechaza, o si lo prefiere a otro. Estas pruebas tienen mayor variabilidad en los resultados, también es más compleja su interpretación, ya que los resultados son sobre apreciaciones completamente personales (Vera Enríquez, 2008).

No se requiere que los panelistas sean entrenados y se debe contar como mínimo con 30 personas, pero sí deben ser consumidores frecuentes del producto evaluado para tener una percepción básica de cuáles son las características de los alimentos evaluados. Dentro de estas pruebas se encuentran las de preferencia, de grado de satisfacción y de aceptación (Vera Enríquez, 2008).

2.16.1.2 Pruebas discriminativas

Las pruebas discriminativas son objetivas-analíticas y se utilizan con el fin de establecer una uniformidad de la calidad del producto, como en los casos cuando se cambia una materia prima, se modifica un proceso. También se establecen las diferencias entre dos muestras y la magnitud e importancia de estas. Los jueces deben tener una aptitud dispuesta a realizar las pruebas de la manera correcta, los jueces o panelistas deben tener un entrenamiento previo (UPAEP, 2014).

La cantidad de jueces que se requieren varía dependiendo del nivel de complejidad de la prueba, pues se necesitan de 12 a 20 jueces entrenados para una prueba sencilla y para pruebas complicadas de 7 a 12 jueces entrenados. Algunas pruebas discriminativas son: pareada simple, dúo – trío, triangular. comparación múltiple, ordenamiento (UPAEP, 2014).

2.16.1.3 Pruebas descriptivas

Por medio de esta prueba se determinan ingredientes esenciales y variables del proceso, como también se identifica cuales atributos son más importantes para la aceptabilidad, los atributos están predefinidos y se presentan en grados o escalas. Los jueces deben recibir un entrenamiento intenso, en ocasiones los jueces deben tener experiencia en productos específicos, por lo general se necesitan de 8 a 12 personas (Domínguez, 2007).

Estas pruebas se basan en la detección y la descripción de los aspectos sensoriales cualitativos y cuantitativos, por un grupo de personas entrenadas y estandarizadas, los resultados de los panelistas deben ser en valores cuantitativos proporcionales a la intensidad que perciben de cada tributo evaluado. Algunas pruebas descriptivas son: escala no estructurada, escala estructurada, escala estándar, estimación de magnitud, perfiles sensoriales, relaciones psico-físicas (Domínguez, 2007).

III. MARCO METODOLÓGICO

Por medio del siguiente apartado se desarrolla la metodología de investigación para el presente estudio, con el fin de dar respuesta al problema con base en los objetivos establecidos anteriormente.

3.1 Enfoque de la investigación

La presente investigación se desarrolla desde un modelo mixto, es decir, tanto cualitativo como cuantitativo, pues se realizarán revisiones bibliográficas y procedimientos experimentales, se contabilizarán los datos obtenidos durante la elaboración de los prototipos, dado que se le realizarán análisis de laboratorio de índole microbiológico, físico-químico, a las materias primas y al producto terminado, pero también se aplicará análisis sensorial.

Parte importante por aplicar serán ensayos de laboratorio, pues por medio de pruebas en los prototipos realizados se ejecutarán diversas estrategias para materializar el proyecto; se utilizarán investigaciones o desarrollos científicos con los datos recolectados ligado a los datos teóricos adquiridos durante el proceso; en donde se realizarán paneles sensoriales, con el fin de determinar la aceptación de la bebida con la formulación óptima.

3.2 Métodos de la investigación

3.2.1 Método científico

El método científico es una herramienta utilizada para descubrir y recolectar sucesos y datos con base en la hipótesis, en donde se genera respuesta a las preguntas científicas de una investigación (Jacinto y Alipio, 2017).

3.2.2 Método deductivo

A través de este método y por medio de los datos recolectados, se generan conclusiones o resultados, según los datos obtenidos (Jacinto y Alipio, 2017).

3.2.3 Método inductivo

Este método inicia con una hipótesis deducida de principios o leyes o sugerida por los datos experimentales, y aplicando las reglas de la deducción, se asocia a predicciones que se someten a verificación empírica (Jacinto y Alipio, 2017).

3.3 Tipo de investigación

Investigación descriptiva: el presente trabajo se basa bajo datos ya obtenidos por medio de investigaciones previas. Al respecto, en esta investigación el problema científico ha alcanzado cierto nivel de claridad, pero aún se necesita información, para poder aclarar las causas de posibles variables (Chaves, s. f.).

Investigación exploratoria: el presente trabajo se circunscribe como un estudio exploratorio, pues aborda un nicho de mercado que actualmente en Costa Rica está en aumento, pero solo se ha llevado a cabo por pequeñas empresas, y necesita ser aclarado y delimitado, y esta subdivisión como tal implica mucha investigación (Cazau, 2006).

Investigación experimental: es la aplicación de un estímulo a una persona o grupo de personas, realizando una manipulación intencional para observar y analizar posibles resultados. El presente trabajo se clasifica como experimental, pues se debe realizar una caracterización de acuerdo con los principios y particularidades del método científico; esto corresponde al método cuantitativo también (Serrano, García y León, s.f.).

3.4 Población y muestra

Población: objeto de estudio sobre el cual se pretende que recaigan los resultados o conclusiones de la investigación, el interés con respecto a la población se dirigirá a sujetos, o grupo de estudio (Cazau, 2006).

Muestra: es una parte representativa de la población (Gómez y Villasís, 2016).

3.5 Materiales y equipos de laboratorio

Para realizar las pruebas fisicoquímicas en las bebidas de kéfir y kombucha es necesario el uso de los siguientes equipos de laboratorio: pH metro, refractómetro y balanza, con el fin de recolectar datos de pH y grados Brix a través de un tiempo determinado. A continuación, se detalla el instrumento requerido para cada etapa de las pruebas.

Tabla 5

Caracterización de los instrumentos que se utilizan en el laboratorio para análisis de sólidos totales (°Brix), pH y temperatura

Instrumento¹	Modelo/marca	Análisis
Refractómetro	Hanna	Sólidos totales (°Brix)
pH -metro	Hanna	pH
Termómetro	Cooper	Temperatura
Romana	Ocony	Masa

Notas: 1: se refiere a los instrumentos utilizados en la elaboración de los ensayos. Fuente: elaboración propia

3.6 Descripción de los ensayos

Para llevar a cabo este proyecto, se realizaron repetición de ensayos para obtener diferentes datos, y se utilizó como materia prima residuos de cáscara de piña con el fin de dar sabor y características propias de esta fruta. En los ensayos, se hizo uso de las comunidades simbióticas de SCOBY en kombucha y tibicos en kéfir.

Se les añadió agua sin cloro, azúcar orgánica y los microorganismos, es decir, tibicos de Kéfir y SCOBY a cada ensayo. En el caso de las formulaciones de kombucha y kéfir se llevaron a cabo tres repeticiones de cada una de las mismas con el fin de darle validez estadística a la investigación, para un total de 9 ensayos para kéfir y 12 ensayos de kombucha.

Fermentación 1: durante un lapso de 148 horas (casi 7 días) se realizó la primera fermentación de las bebidas de kombucha, y en el caso del kéfir 72 horas (3 días) de fermentación. Se tomaban muestras de pH y grados Brix° desde la hora 0 de inoculación, por lapsos de cada 24 horas hasta llegar a las 72 y 148 horas.

Se determinó las 72 horas con base en el trabajo “Estudio de la fermentación de kéfir de agua de piña con tibicos” elaborado por Lopez-Rojo, Garcia-Pinilla, Hernández-Sánchez y Cornejo-Mazon (2017). Para el caso de la kombucha se dio una extensión de 148 horas por tanto un total 7 días. “La fermentación se realiza durante 6 a 14 días en condiciones aeróbicas y a temperatura ambiente”, por lo tanto, determinó que las 148 es el tiempo ideal de fermentación para la kombucha (Solís y Zambrano, 2021).

Otros estudios realizados recomiendan realizar la fermentación de tres días en el kéfir (Serrano, 2022). Algunas empresas desarrolladoras de la bebida de kéfir recomiendan llevar a cabo una primera fermentación durante de tres días y al finalizar llevarlo a segunda fermentación de un día por un seguimiento de 6 a 12 horas, con incorporación de la fruta a saborizar, en este caso, la cáscara de piña (OhMyKefir.com, 2022).

Se utilizaron frascos de vidrio, pues es el material donde los microorganismos que se desean mantener no sufren daño alguno, según la investigación de María del Pilar Fernández, quien indica: “Durante el proceso de manipulación, no es recomendable utilizar utensilios de metal, ya que algunos de ellos pueden reaccionar con el ácido del kéfir y producir una pequeña corriente eléctrica” (2017). Por lo tanto, se pueden alterar las propiedades los microorganismos beneficios, inclusive podría ocasionar patologías dañinas a largo plazo a las personas consumidoras.

Asimismo, cuando se da el proceso de fermentación se crea un ambiente ácido, entonces, cuando el líquido es mezclado con todas las materias primas, más los tibicos y SCOBY se va dando la fermentación, así que el líquido empieza a bajar el pH, y si tiene contacto con metales reactivos estos reaccionan fácilmente generando la muerte de los microorganismos.

Fermentación 2: al finalizar la primera fermentación, los ensayos fueron sometidos a una segunda fermentación, en donde el SCOBY y los nódulos de kéfir eran separados y se agregó la cáscara de la piña, previamente triturada con una licuadora industrial, con el fin de otorgar sabor a las bebidas.

Tabla 6

Formulaciones de la bebida de kéfir ensayos 1, 2 y 3

Ensayos	Agua	Tibicos	Azúcar	Cáscara de piña
Ensayo 1	1/L	40/g	55/g	100 /g
Ensayo 2	1/L	54/g	55/g	100/g
Ensayo 3	1/L	40/g	28,9/g	100/g

Fuente: elaboración propia

Tabla 7

Formulaciones de las bebidas de kombucha ensayos 1,2,3 y 4

Ensayos	Agua	SCOBY	Azúcar	Cáscara de piña	Té Negro
<i>Ensayo 1</i>	1/L	150/g	42/g	62 /g	4/g
<i>Ensayo 2</i>	4/L	143/g	110/g	250/g	15/g
<i>Ensayo 3</i>	4/L	150/g	110/g	100/g	15/g
<i>Ensayo 4</i>	1/L	146/g	27/g	62/g	4/g

Fuente: elaboración propia

3.9 Descripción del proceso de kéfir de agua

En el caso del Kéfir, se llevó a cabo una primera fermentación durante 72 horas con los tibicos. Al finalizar el tiempo, se le retiraron los tibicos y se le añadió la cáscara de la piña y se le dio una segunda fermentación durante un día y un seguimiento durante 12 horas (OhMyKefir.com, 2022).

Recepción de materias primas: cada producto es recibido de acuerdo con los parámetros que corresponden según sus especificaciones, según las Buenas Prácticas de Manufactura. La cáscara de piña debe llegar debidamente refrigerada en contenedores en un rango de temperatura de 0 °C a 5 °C.

Limpieza: en el caso de los envases y utensilios, es necesario llevar cabo una limpieza en donde se eliminan residuos o suciedad de alimentos, suciedad de gasa y otros tipos de contaminación (FAO, 2016)

Pesado: de acuerdo con cada formulación, se pesan las materias primas.

La eliminación del cloro del agua es un punto importante de acuerdo con el sitio web vida sana (CDC, 2021): “Hervir el agua es una de las formas más populares de cómo quitar el cloro del agua”. Se debe recordar que tanto la kombucha y kéfir son bebidas simbióticas, por lo tanto, la presencia de cloro podría afectar el desarrollo de estas. Por medio del kit para la determinación del cloro libre o total se logra demostrar la eliminación del cloro en el agua, una vez que se hierve ver Anexo 5, en la ilustración ilustración 27 se muestran las instrucciones para medir el cloro libre residual del agua; en la ilustración 28, se observa la muestra de agua sin hervir; en la ilustración 29, se observa la muestra de agua hervida (70°C por 20 segundos)

Mezcla: la temperatura del agua se debe encontrar por debajo de los 28 °C, luego añadir el azúcar y mezclar de manera constante, hasta que esta se haya disuelto por completo.

Inoculación de Kéfir: adicionar los tibicos de kéfir, se da una agitación suave para la homogenización durante pocos minutos del producto. Luego se tapa con una toalla de papel y una liga quedando bien sujeta, sin ningún espacio expuesto al interior del envase.

Fermentación: se deja fermentar todo lo adicionado en el frasco de vidrio, por 72 horas, en un lugar oscuro y ventilado que favorezca el crecimiento de los microorganismos.

Filtración: una vez terminada la fermentación, se filtran los tibicos de kéfir.

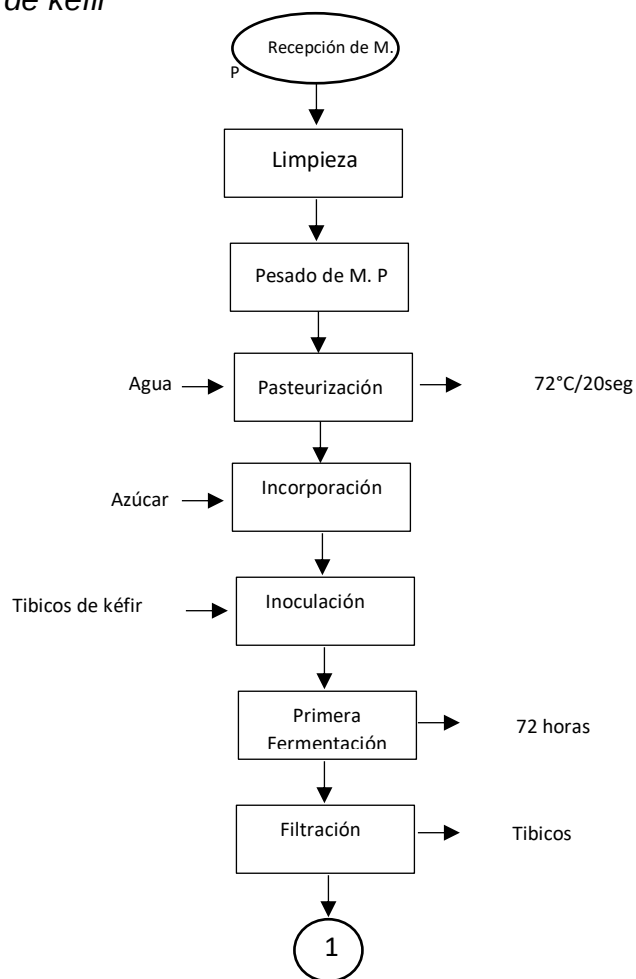
Incorporación de cáscara de piña: triturada mediante una licuadora, luego es agregado al kéfir con el fin de observar el comportamiento durante 1 día.

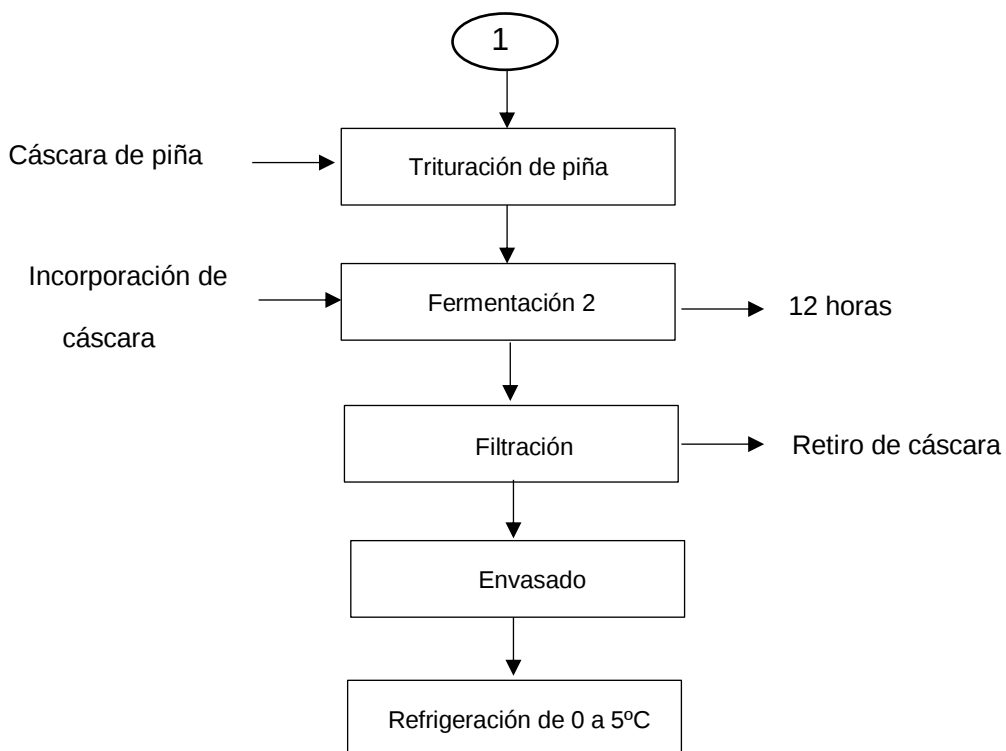
Envasado: en botellas de 500 mL se envasa cada bebida.

Almacenamiento: se almacena la bebida empacada a una temperatura de 0 °C a 5 °C.

Figura 7

Diagrama de flujo de kéfir





Fuente: elaboración propia

3.10 Descripción de proceso de kombucha

3.10.1 Primera fermentación

A continuación, se describen los pasos para la primera fermentación de la bebida kombucha con cáscara de piña aplicado en los ensayos 1,2,3 y 4. Los pasos son los siguientes:

Recepción de materias primas: cada producto es recibido de acuerdo con los parámetros que corresponden a sus especificaciones, según las Buenas Prácticas de Manufactura. La cáscara de piña debe llegar debidamente refrigerada en contenedores en un rango de temperatura de 0 °C a 5 °C.

Limpieza: en el caso de los envases y utensilios es necesarios llevar cabo una limpieza en donde se eliminan residuos y suciedad de alimentos, suciedad de gasa y otros tipos de contaminación (FAO, 2016).

La eliminación del cloro del agua: se realiza el mismo procedimiento descrito en la página 61.

Para la fermentación de kombucha, se utilizó té negro mediante una infusión. Según la formulación de cada ensayo la relación de agua varia para cada uno de ellos.

Mezcla: la infusión del té debe haber bajado la temperatura hasta 28 °C, debido a que es una temperatura apta para el buen funcionamiento de los microorganismos inoculados, luego añadir el azúcar y mezclar de manera constante, hasta que esta se haya disuelto por completo.

Inoculación de SCOBY: adicionar la cantidad de SCOBY necesaria, se da una mezcla breve y suave. Luego se tapa con una toalla de papel y una liga quedando bien sujeta sin ningún espacio expuesto al interior del envase.

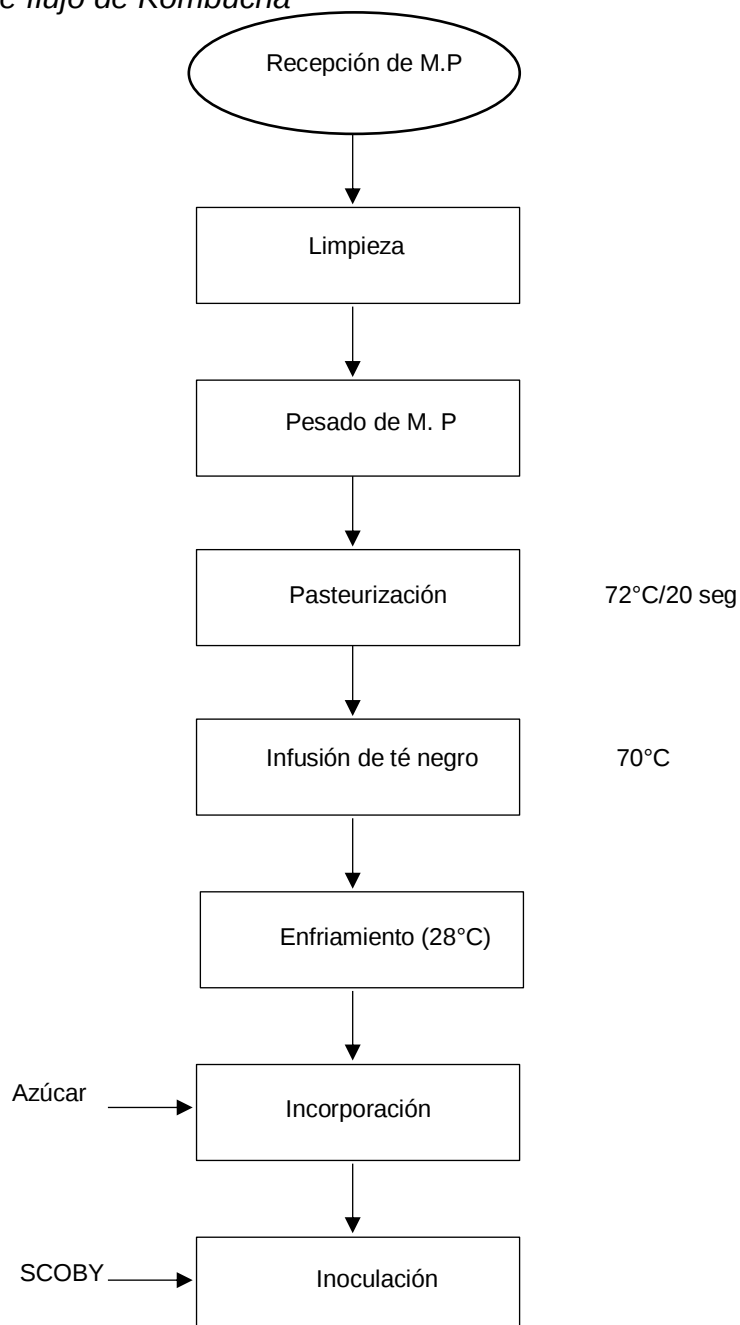
Fermentación 1: se deja fermentar todo lo adicionado en el frasco de vidrio, por 148 horas, en un lugar oscuro y ventilado que favorezca el crecimiento de los microorganismos (González, 2018). Según (Bley, 2020), La comunidad simbiótica del SCOBY de kombucha, la fermentación se lleva a cabo durante 7-10 días, cubriéndolo con un paño limpio de algodón, el envase.

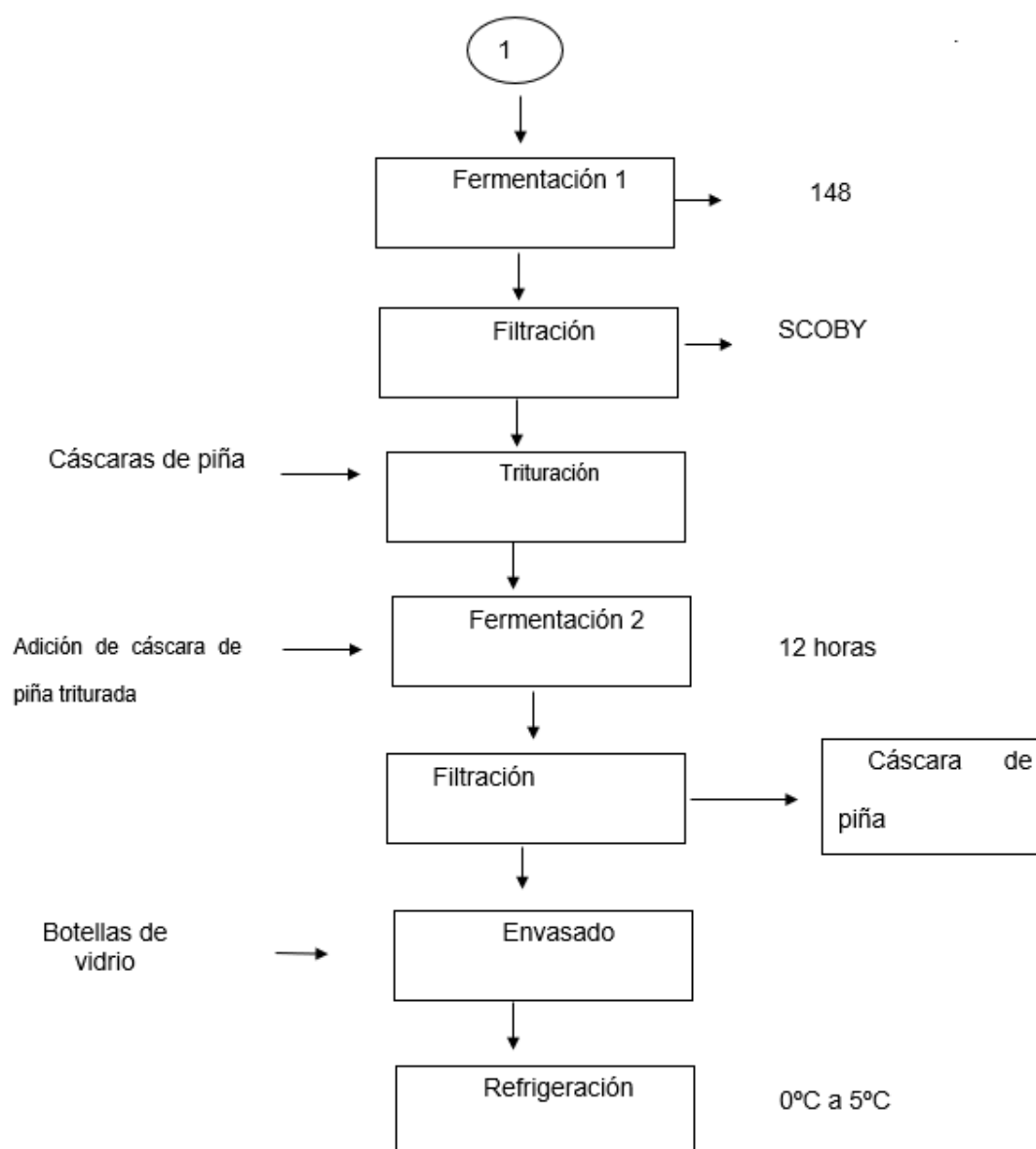
3.10.2 Segunda fermentación

Al finalizar el lapso de las 72 horas, se lleva a cabo la extracción del SCOBY de la kombucha, con el fin de evitar una contaminación en ella. Posteriormente, se agrega la cáscara de piña triturada a la kombucha filtrada, para aportar sabor se adiciona la cáscara piña y se deja reposar durante un lapso de 12 horas.

Figura 8

Diagrama de flujo de Kombucha





Fuente: elaboración propia

3.11 Panel sensorial

El panel sensorial se realiza con un grupo de 100 personas, que van desde los 18 años a 65 años, consideradas personas no entrenadas, pues la prueba de aceptación se aplica con el objetivo de determinar la aceptabilidad de los prototipos elaborados con cáscara de piña convencional, inoculadas con tibicos de Kéfir y el SCOBY de Kombucha.

En la prueba de aceptación se evalúa los atributos de olor, color, sabor y textura, cuya escala de evaluación va del 1 al 5, en donde 1 se califica me disgusta extremadamente, 2 me disgusta moderadamente, 3 no me gusta ni me disgusta, 4 me gusta moderadamente y 5 me gusta extremadamente. Se pueden observar los datos completos en el anexo 3.

3.12 Comparación con marcas comerciales

Con el fin determinar la similitud de la kombucha experimental versus marcas comerciales reconocidas de kombucha, se tomaron en cuenta parámetros como pH y grados Brix. Con el fin de buscar una similitud a las bebidas aceptadas comercialmente en los mercados.

Se realizaron análisis de presencia de probióticos (bacterias ácido lácticas) de dos marcas comerciales, en donde sus etiquetas declaran la presencia de probióticos, con la finalidad de conocer si cumplen con lo establecido por la legislación, en el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.01.60:10 Etiquetado Nutricional Productos Alimenticios Preenvasados para Consumo Humanos para la población a partir de 3 años, N° 37100-COMEX-MEIC-S. “El alimento debe de contener un número mayor o igual a 1×10^6 UFC/g de bacterias viables de origen probiótico en el producto” (RTCA, 2011).

3.12 Análisis Estadísticos

Los análisis de las bebidas de kéfir y kombucha se desarrollan por medio del programa es una herramienta informática (específicamente, un lenguaje computacional) sumamente potente para realizar distintos cálculos científicos, numéricos y estadísticos, así como para crear gráficas y figuras de gran calidad (Silva, 2019).

3.12.1 Hipótesis nulas

Son, en un sentido, el reverso de las hipótesis de investigación. También constituyen proposiciones acerca de la relación entre variables solamente que sirven para refutar o negar lo que afirma la hipótesis de investigación.

3.12.2 Hipótesis alternativas

Como su nombre lo indica, son posibilidades alternativas - ante las hipótesis de investigación y nula. Ofrecen otra descripción o explicación distintas a las que proporcionan estos tipos de hipótesis.

Asesoría por parte Esteban Ballesterro Alfaro profesor de matemáticas del ITCR sede San Carlos.

3.13 Variables

A continuación, se muestra la matriz de variables del trabajo de investigación, con el fin de considerar todo lo que abarca cada objetivo para su desarrollo y ejecución, obteniendo los resultados necesarios para que dicho proyecto pueda ser replicado por toda aquella persona o compañía con la necesidad o que guste implementar un proceso innovador de fermentación.

Tabla 8

Definición y operacionalización de variables

Objetivos	Variables	Definición conceptual	Indicadores	Definición Instrumental	Definición Operacional
1. Valorar por medio de los parámetros de pH y grados Brix el procesamiento de bebidas fermentativas con comunidades simbióticas.	1. Características físico química (temperatura de muestra, pH, °Brix). 1.1 Monitoreo de temperatura (°C), pH, °Brix.	1. Características de bebida fermentada con residuos de piña, variables, clima, pH, °Brix, temperatura (en °C), humedad relativa.	1. Prototipos de bebida fermentada con Kéfir y kombucha.	1. pH -metro, refractómetro, termómetro.	1. Muestreo. 1.1 Prototipos.

2.Examinar por medio diferentes métodos de análisis las muestras de materia prima y producto terminando, garantizando la inocuidad en los ensayos realizados.	2.Características químicas. 2.1 Análisis cualitativo presencia de plaguicidas. 2.2 Análisis de recuento de bacterias ácido lácticas (BAL).	2.Presencia de plaguicidas en cáscaras de piña. análisis microbiológicos 2.2 de las bebidas listas para consumir, colonias, equipos de laboratorio, bacterias ácido lácticas. Probióticos.	2. Carbamatos, organofosfatos, tiofosfatos. 2.1 Bacterias ácido lácticas.	2. Diagrama de flujo vertical 2.1 Análisis de agroquímicos. 2.2 Análisis de bacterias ácido lácticas.	2.Análisis cualitativo de laboratorio. 2.1 Análisis de laboratorio recuento microbiológico.
3.Determinar la aceptación de las bebidas fermentadas, desarrolladas para la investigación mediante pruebas de sensoriales que evidencie su aceptación.	3.Análisis sensorial. 3.1 Características sensoriales	3.Pruebas afectivas, escala hedónica, panelistas, cabinas de pruebas. 3.1 Olor, color, sabor, textura.	3. Análisis realizados para los métodos seleccionados. 3.1 Se realizó análisis comparativos con dos marcas comerciales, en comparación a la elaborada para este proyecto.	3. Características finales de los prototipos.	3.Panel sensorial. 3.1 Prueba hedónica de aceptación.

Fuente: elaboración propia

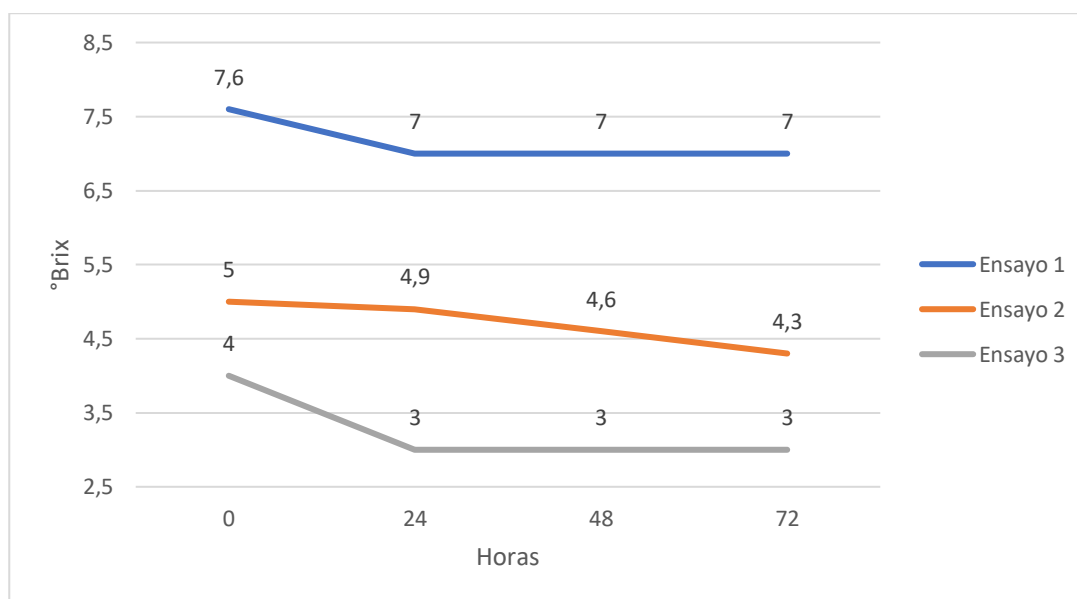
IV. ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1 Resultado del comportamiento del Kéfir

Por medio de los siguientes gráficos 1, 2, 3 y 4 se muestran los resultados de pH y grados Brix durante la primera y segunda fermentación que da como resultado final la bebida de kéfir.

Gráfico 1

Promedio de grados Brix en el ensayo 1,2 y 3 durante la primera fermentación en uso de tibicos para la bebida de kéfir.



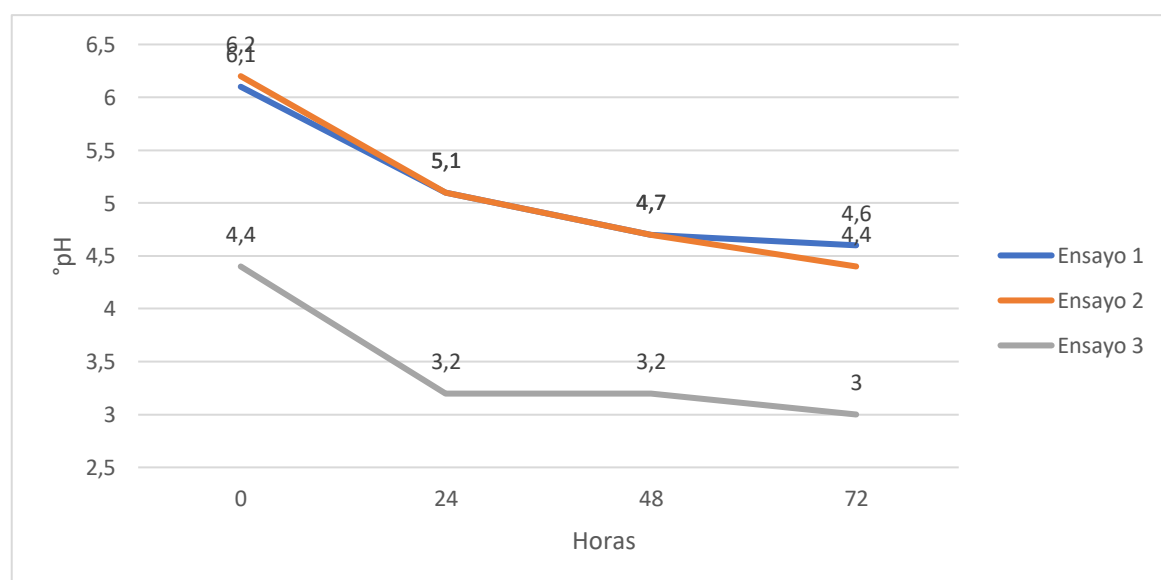
Fuente: elaboración propia

Con respecto al gráfico 1, representa el promedio de datos obtenidos de los grados Brix en los ensayos 1, 2 y 3, mediante el muestreo desde de la hora 0 hasta llegar a 72 horas en lapsos de 24 horas. Los grados Brix iniciales fueron de 7,6 en donde obtuvo un descenso a 7, por lo tanto, la pérdida de grados Brix fue de 0,6; para el ensayo 2 se obtuvo una pérdida de 0,8 de °Brix; y, en el caso ensayo 3, fue 1 °Brix.

En comparación con el “Estudio de la fermentación de kéfir de agua de piña con tibicos” (GRarcía, Hernandez, Cornejo y López, 2017) el descenso que se dio fue 1,5, por tanto, la diferencia entre ensayo y la teoría fue de 0,9°Brix, esto debido al uso de los azúcares como sustrato durante la fermentación (García, Hernandez, Cornejo y López, 2017).

Gráfico 2

Promedio de pH en el ensayo 1,2 y 3 durante la primera fermentación en uso de tibicos para la bebida de kéfir



Fuente: elaboración propia

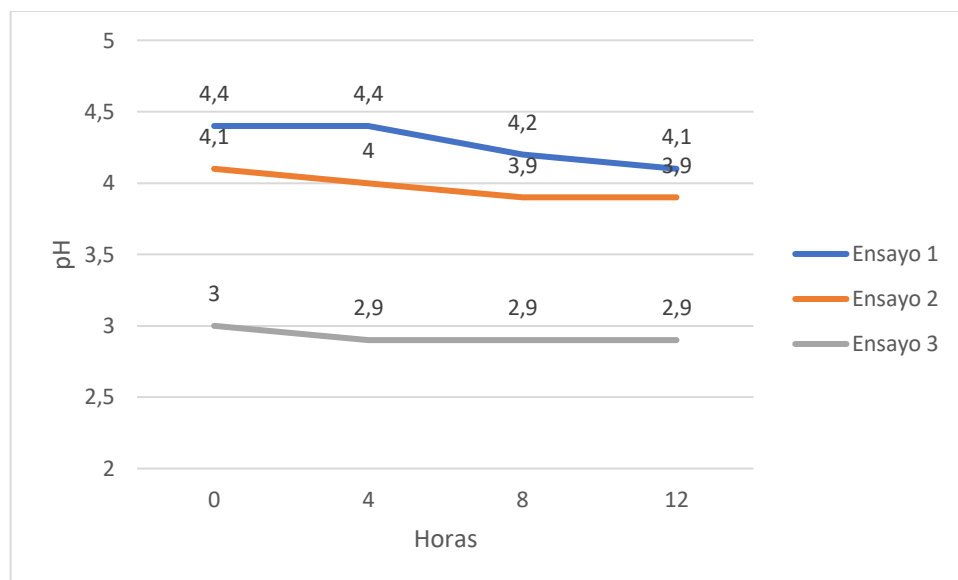
De acuerdo con el comportamiento de los ensayos del kéfir durante la primera fermentación, se obtuvieron descensos. En un inicio en el ensayo 1 pasó de 6,1 a 4,5 obteniendo un descenso de 1,5; en el ensayo 2 se dio un inicio de 6,1 llegando a 4,4, por lo tanto, hubo un descenso de 1,8; y, en el caso del ensayo 3, inició en 4,4 llegando a 3, es decir, una pérdida de 1,4 pH. En comparación con el estudio titulado “Estudio de la fermentación de kéfir de agua de piña con tibicos” (García, Hernandez, Cornejo y López, 2017) el pH inicial era 4,6 y al final de 3,2 se obtiene una disminución de 1,4.

El pH final promedio de los 3 ensayos es de 4, mientras que, según el estudio mencionado anteriormente, es de 3,2, por lo tanto, la diferencia es de 0,8, en donde el descenso de pH se da a causa de la producción de ácidos orgánicos (Mora, Francisco Javier Vargas, 2011).

En el caso de los tibicos, al estar activos inician el consumo de azúcar del medio, con el propósito de crecer. Por lo tanto, el resultado de consumo de azúcares es la producción de biomasa, etanol y ácidos orgánicos, lo que favorece la acidificación del medio. En el caso del descenso del pH se da por la formación ácido láctico y ácido acético a partir del etanol (Rojo, 2016).

Gráfico 3

Promedio de pH en el ensayo 1,2 y 3 durante la segunda fermentación de kéfir



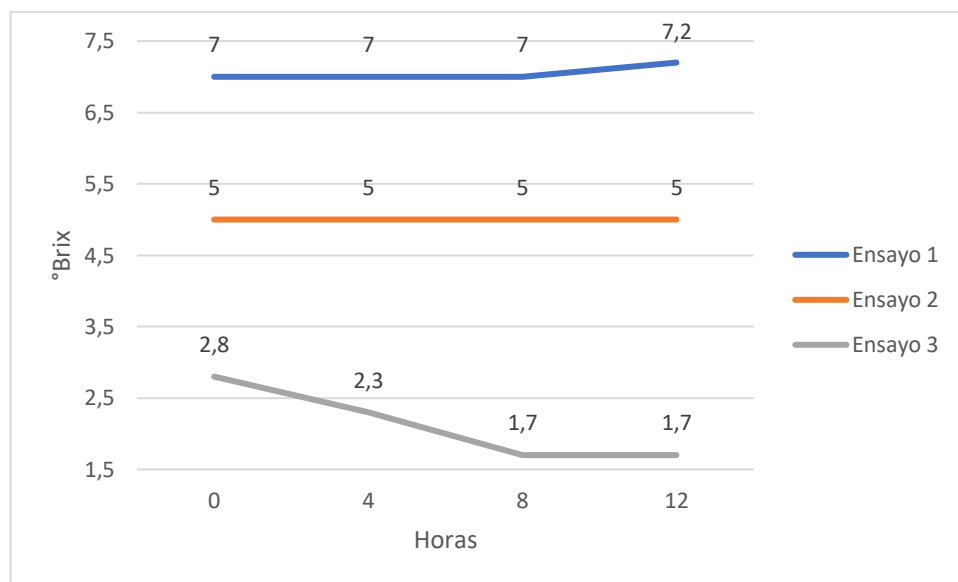
Fuente: elaboración propia

En el caso del ensayo 1, 2 y 3 durante la segunda fermentación, el pH desciende a las 12 horas en los siguientes promedios finales de pH a 4,1, 3,9 y 2,9. Según Katie Williamson, del sitio web Yo Soy fermentista (Williamson, 2018), el ácido acético y ácido láctico provocan que la bebida sea ácida entre los rangos de 4 y 4,5, por medio de este rango de acidez protege al kéfir del crecimiento de patógenos en el caso del kéfir no tuviera un pH tan bajo.

En el caso de pH, durante la segunda fermentación se le agrega la cáscara de piña triturada en donde cumple la función de disminuir el pH debido al ácido actico y acético a partir de etanol (López-Rojó, rarcía-Pinilla y Hernández-Sánchez, 2017).

Gráfico 4

Promedio de grados Brix en el ensayo 1,2 y 3 durante la segunda fermentación de kéfir.



Fuente: elaboración propia

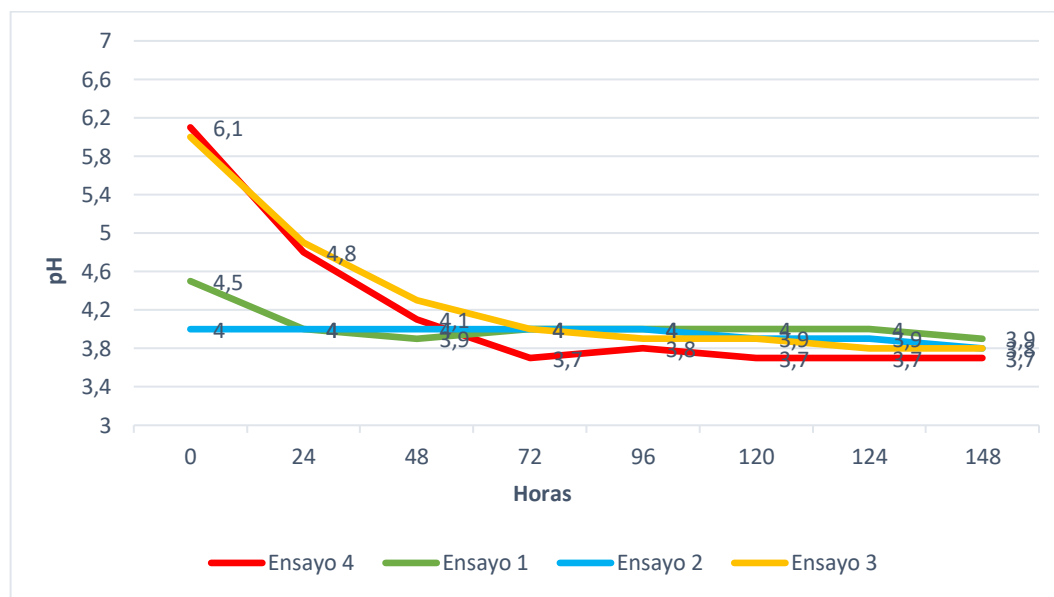
En el caso de la segunda fermentación, se dio un seguimiento por 1 día. Inició con 7° Brix en donde da una tendencia al crecimiento de 7,2° Brix debido a la adición de la cáscara de piña triturada. En un estudio realizado en la Universidad de Costa Rica en el uso de cáscara de piña (Quirós, 2013) se llegó a determinar que esta llega a tener 2 grados Brix, por lo tanto, hubo una relación con el aumento de grados Brix. En el caso del ensayo 2, se mantuvo constante en cuanto a los grados Brix y, en el caso del ensayo 3, se da descenso que llega a 1,7 °Brix finales, por ende, se trata de una bebida muy ácida.

4.2 Resultado del comportamiento de la Kombucha

Por medio de los siguientes gráficos 5, 6, 7 y 8, se muestran los resultados obtenidos mediante ensayos de la bebida de kombucha durante la primera y segunda fermentación en donde se evaluaron los comportamientos de pH y grados Brix.

Gráfico 5

Promedio de pH en el ensayo 1,2,3 y 4 en la primera fermentación de Kombucha



Fuente: elaboración propia

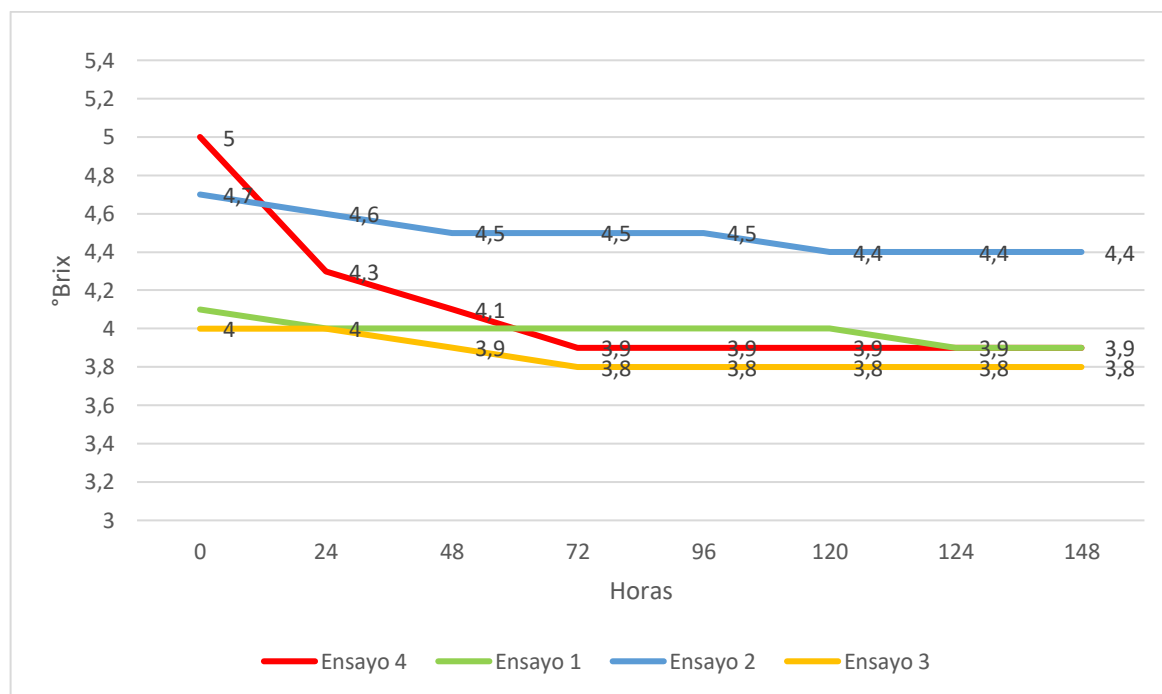
Según Robles Aedo (2011), durante la primera fermentación las bacterias acéticas producen ácidos orgánicos y luego se desdobla a CO_2 y agua, por lo tanto, se da un descenso de pH.

El pH óptimo de la bebida se encuentra 3,5 y 4,5 por la presencia del ácido acético, lo cual sugiere la presencia de compuestos antimicrobianos con excepción del ácido acético y proteínas de gran tamaño en “kombucha”. Según Gloria y Zambrano (2011), al añadir sacarosa durante el proceso de fermentación, esta es hidrolizada por las levaduras en glucosa y fructosa, por lo tanto, la concentración de sacarosa acelera la disminución del pH en poblaciones de levaduras y bacterias. Entonces, los datos obtenidos de pH en los ensayos 1,2,3 y 4 que son 3,9, 3,8, 3,8 y 3,7 se encuentra en dentro del rango óptimo de la producción, según lo anteriormente citado.

En el caso del pH, se obtuvo un descenso en los ensayos, pues la fermentación es de dos pasos: las levaduras fermentan el azúcar a etanol, que se oxida aún más por bacterias ácidas para producir ácido acético en la segunda fermentación. El resultado es un pH reducido del medio. Tanto el etanol como el ácido acético tienen actividad antimicrobiana contra bacterias patógenas, por lo tanto, proporciona protección contra la contaminación del hongo del té (Kumar y Vinod , 2016).

Gráfico 6

Promedio de grados Brix en el ensayo 1,2,3 y 4 en la primera fermentación de Kombucha

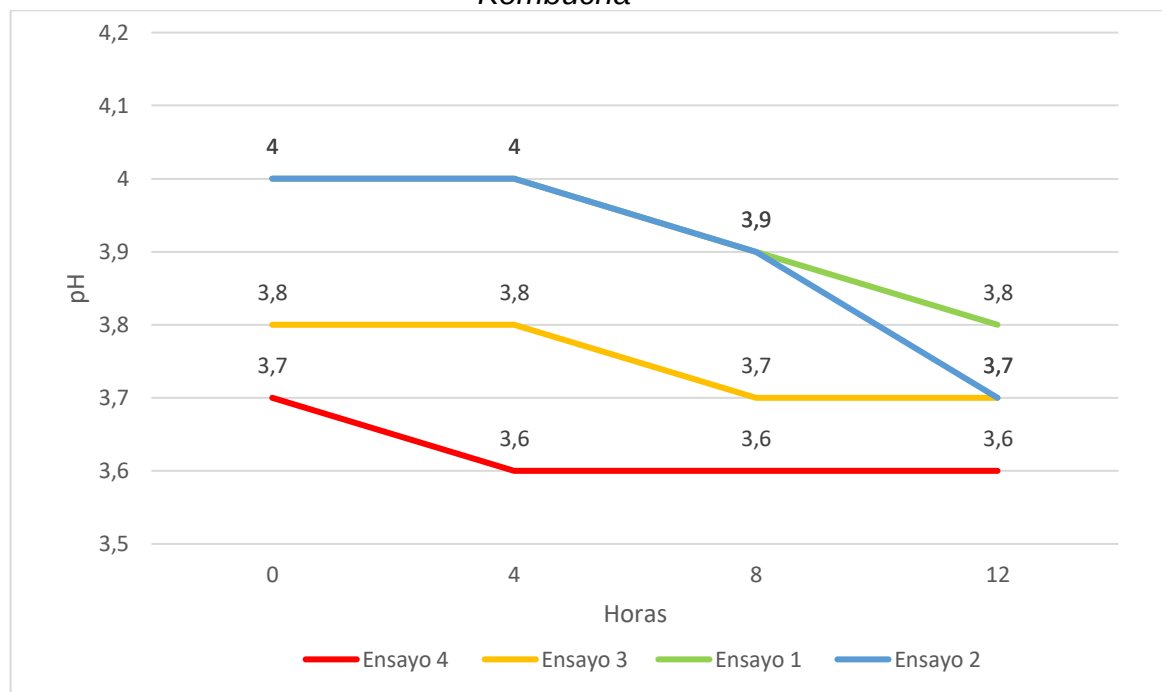


Fuente: elaboración propia

En el caso de los grados Brix iniciales versus los finales obtuvieron un descenso en el ensayo 1 de 0,2, en el ensayo 2 de 0,3, ensayo 3 de 0,2 y en el ensayo 4 de 1,1. Es importante recordar la relación existente entre grados Brix y pH durante la fermentación, pues las bacterias presentes en la fermentación se encargan de convertir la glucosa en ácidos que se forman como un subproducto que disminuye el pH, ácido glucurónico, ácido ascórbico, ácido fólico, ácido acético y pequeñas cantidades de alcohol etílico, producto de oxidación de la glucosa. (Toribio, 2019).

Gráfico 7

Promedio de pH en el ensayo 1,2,3 y 4 en la segunda fermentación de Kombucha



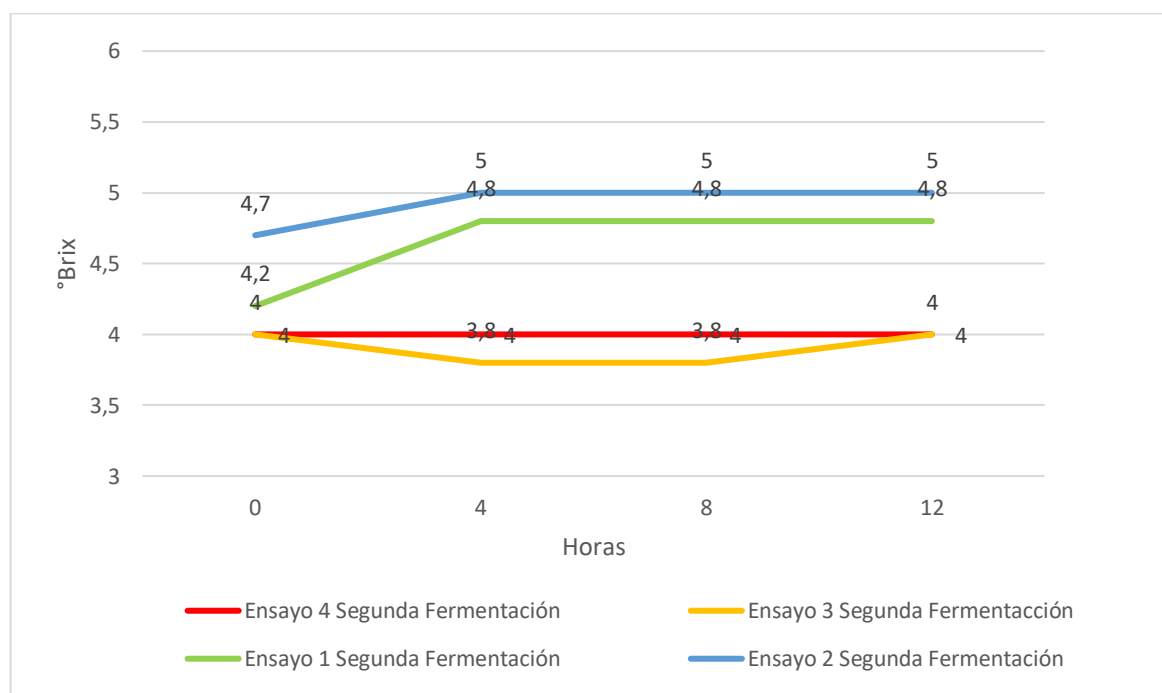
Fuente: elaboración propia

Durante la segunda fermentación se realiza una comparación con la kombucha experimental y con las kombucha comerciales de marcas bebida comercial 1 y bebida comercial 2. En el caso del ensayo 1,2,3 y 4 el pH final fue 3,8, 3,7, 3,7 y 3,7 a comparación de las marcas comerciales bebida comercial 1 3,3 de pH y bebida comercial 2 pH 3,1, por tanto, los ensayos realizados durante la investigación tienen un pH más alto que las bebidas comerciales.

En el caso del comportamiento del pH durante la segunda fermentación, fue normal seguir descendiendo, pues las bacterias presentes en la fermentación se encargan de convertir la glucosa en ácidos (Toribio, 2019). De acuerdo con el rango óptimo de efectos antimicrobianos que va de 3,5 y 4,5, se encuentra en 3,7 de pH, debido a la presencia de ácido acético (Mora, Francisco Javier Vargas, 2011).

Gráfico 8

Promedio de grados Brix en el ensayo 1,2,3 y 4 en la segunda fermentación de Kombucha



Fuente: elaboración propia

Durante la segunda fermentación, se realiza una comparación con la kombucha experimental y con las kombucha comerciales de marcas bebida comercial 1 y bebida comercial 2. En cuanto a los grados Brix, se encontraron 4,8, 5, 4 y 4 en comparación de las comerciales, donde los grados se encontraban en 4,3 y 5.

En el caso de los grados Brix, se observa un aumento durante de la segunda fermentación porque se le agregó cáscara de piña. En un estudio realizado en Universidad de Costa Rica en el uso de cáscara de piña (Quirós, 2013) se llegó a determinar que la cáscara de piña llega a tener 2 grados Brix, por lo tanto, hubo una relación con el aumento de grados Brix.

4.3 Resultados de análisis estadísticos

En el siguiente apartado se realiza un análisis estadístico por medio del programa R, en donde se busca la hipótesis nula y la alternativa.

4.3.1. Kefir: pH para Fermentación 1

H_0 : las medias de pH para los cuatro grupos tomadas a 0, 24, 48 y 72 horas son iguales

H_1 : al menos un par de medias son diferentes

Como $\text{ValorP}=0.271 > \alpha = 0.05$ no se encontró suficiente evidencia en contra para rechazar H_0 , por lo que asume que no diferencia significativa en los valores de pH de los grupos con Fermentación 1.

4.3.2. Kefir: grados Brix para Fermentación 1

H_0 : las medias de grados Brix para los cuatro grupos tomadas a 0, 24, 48 y 72 horas son iguales

H_1 : al menos un par de medias son diferentes

Como $\text{ValorP}=0.963 > \alpha = 0.05$ no se encontró suficiente evidencia en contra para rechazar H_0 , por lo que asume que no diferencia significativa en los valores de *Grados Brix* de los grupos con *Fermentación 1*.

4.3.3. Kefir: pH para Fermentación 2

H_0 : las medias de *pH* para los cuatro grupos tomadas a 0, 4, 8 y 12 horas son iguales

H_1 : al menos un par de medias son diferentes

Como $\text{ValorP}=0.984 > \alpha = 0.05$ no se encontró suficiente evidencia en contra para rechazar

H_0 , por lo que asume que no diferencia significativa en los valores de *pH* de los grupos de *Fermentación 2*.

4.3.4. Kefir: grados Brix para Fermentación 2

H_0 : las medias de *pH* para los cuatro grupos tomadas a 0, 4, 8 y 12 horas son iguales

H_1 : al menos un par de medias son diferentes

Como $\text{ValorP}=0.998 > \alpha = 0.05$ no se encontró suficiente evidencia en contra para rechazar H_0 , por lo que asume que no diferencia significativa en los valores de grados Brix de los grupos de Fermentación 2 de Kefir.

4.3.5. Kombucha: pH para Fermentación 1

H_0 : las medias de pH para los ocho grupos tomadas a 0, 24, 48, 72, 96, 120, 124 y 148 horas son iguales

H_1 : al menos un par de medias son diferentes

Como $\text{ValorP}=0.0023 < \alpha = 0.05$ se encontró suficiente evidencia en contra para rechazar H_0 , por lo que asume que existe diferencia significativa en los valores de pH en al menos un par de los grupos con Fermentación 1.

Se puede observar que el pH inicial muestra una diferencia significativa con el resto de las mediciones, lo que parece que a partir de la medición de las 20 horas el pH ha sufrido una variación importante y luego, al no mostrar diferencias significativas con las restantes mediciones, se asume que se estabiliza.

4.3.6. Kombucha: grados Brix para Fermentación 1

H_0 : las medias de *grados Brix* para los ocho grupos tomadas a 0, 24, 48, 72, 96, 120, 124 y 148 horas son iguales

H_1 : al menos un par de medias son diferentes

Como **$\text{ValorP}=0.476 > \alpha = 0.05$** no se encontró suficiente evidencia en contra para rechazar H_0 , por lo que asume que no diferencia significativa en los valores de *grados Brix* de los grupos de *Fermentación 1* de Kombucha.

4.3.7. Kombucha: pH para Fermentación 2

H_0 : las medias de *pH* para los 4 grupos tomadas a 0, 4, 8 y 12 horas son iguales

H_1 : al menos un par de medias son diferentes

Como **ValorP=0.5** $> \alpha = 0.05$ no se encontró suficiente evidencia en contra para rechazar H_0 , por lo que asume que no diferencia significativa en los valores de pH de los grupos de *Fermentación 2* de Kombucha.

4.3.8. Kombucha: grados Brix para Fermentación 2

H_0 : las medias de *grados Brix* para los 4 grupos tomadas a 0, 4, 8 y 12 horas son iguales

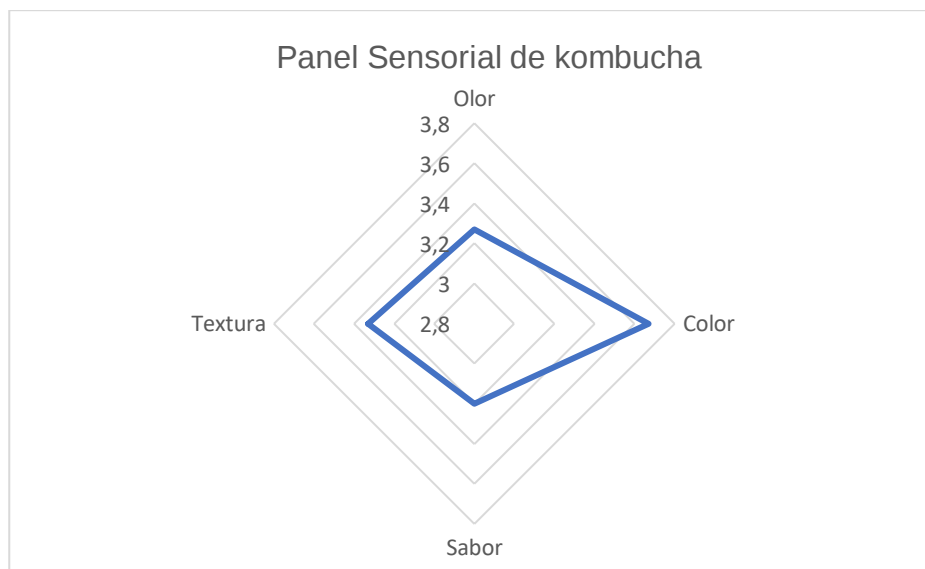
H_1 : al menos un par de medias son diferentes

Como **ValorP=0.931** $> \alpha = 0.05$ no se encontró suficiente evidencia en contra para rechazar H_0 , por lo que asume que no diferencia significativa en los valores de *grados Brix* de los grupos de *Fermentación 2* de Kombucha.

4.3 Panel sensorial

Gráfico 9

Panel Sensorial de kombucha



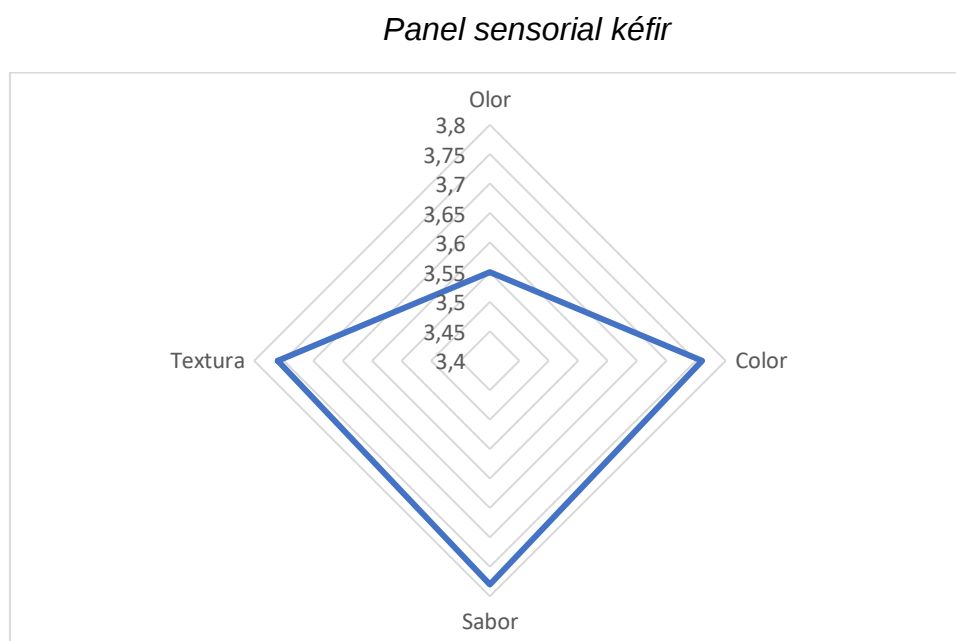
Fuente: elaboración propia

En el Gráfico 9, se logra observar los resultados del panel sensorial por aceptación de la bebida de kombucha, llevado a cabo en una empresa a un total de 100 personas panelistas. Previamente, se les dio una explicación antes de empezar el panel sensorial acerca de las escalas que venían en las hojas ver anexo x. Las variables en prueba durante el panel sensorial fueron color, sabor, textura y olor.

La relación con la escala del 1 al 5 es la siguiente: 1 me disgusta extremadamente, 2 me disgusta modernamente, 3 no me gusta ni me disgusta, 4 me gusta moderadamente y 5 me gusta extremadamente.

Se obtuvo una mayor tendencia de aceptación en el color de bebida con un promedio obtenido de 3,67 de acuerdo con la escala establecida del 1 al 5. En segundo lugar, se encuentra la textura con un promedio 3,33, en un tercer lugar está el olor con un promedio 3,27 de acuerdo con el promedio de la escala del 1 al 5. El último puesto es ocupado por el sabor, con un promedio de 3,2 de variable de sabor.

Gráfico 10



Fuente: elaboración propia

En el Gráfico 19, se logra observar los resultados del panel sensorial de kéfir, por aceptación llevado a cabo en una empresa a un total de 100 personas panelistas. A estas personas panelistas se les dio una explicación previa antes de empezar el panel sensorial. Las variables en prueba fueron color, sabor, textura y olor.

La relación con la escala del 1 al 5 es la siguiente: 1 me disgusta extremadamente, 2 me disgusta modernamente, 3 no me gusta ni me disgusta, 4 me gusta moderadamente y 5 me gusta extremadamente.

Se obtuvo una mayor tendencia de aceptación en el sabor con 3,78, con un promedio 3,76 la textura y color ocupan un mismo puesto de aceptación y, en último puesto, el olor con 3,55.

Tabla 9

Resultados estadísticos obtenidos del panel sensorial de la bebida de kombucha

Olor		Color		Sabor		Textura	
Media	3,27	Media	3,67	Media	3,2	Media	3,33
Error típico	0,09729161	Error típico	0,08768055	Error típico	0,09101004	Error típico	0,09107107
Mediana	3	Mediana	4	Mediana	3	Mediana	3
Moda	3	Moda	4	Moda	3	Moda	3
Desviación estándar	0,97291606	Desviación estándar	0,8768055	Desviación estándar	0,91010045	Desviación estándar	0,91071068

Fuente: elaboración propia

En el caso del análisis de datos del panel sensorial del producto final bebida de kombucha, la media para la característica de olor fue de 3,27, en el caso de color 3,67; sabor 3,2 y en cuanto a textura 3,3 con una relación muy cercana entre los datos obtenidos. En el caso de la moda que hace referencia al cuál es más repetido, el olor fue de 3, en el color 4, sabor se ubica en 3 y, por último, la textura en 3.

Para el dato estadístico de la mediana, que indica el valor central de orden menor a mayor, el olor en 3, color 4, sabor 3 y, por último, la textura en 3. La desviación estándar de qué tan lejos se encuentra la muestra de la media, en el caso del olor $\pm 0,972$, para el color $\pm 0,876$, en el sabor $\pm 0,91010045$ y en la textura el resultado obtenido fue de 0,91. En el caso del error típico, es qué tan lejos se encuentre las muestras de la media, olor $\pm 0,9$, color $\pm 0,8$, sabor 0,09 y textura 0,09.

Tabla 10

Resultados estadísticos obtenidos del panel sensorial de la bebida de kéfir

Olor		Color		Sabor		Textura	
Media	3,55	Media	3,76	Media	3,78	Media	3,84
Error típico	0,08689364	Error típico	0,09440938	Error típico	0,08828329	Error típico	0,09398044
Mediana	4	Mediana	4	Mediana	4	Mediana	4
Moda	4	Moda	4	Moda	4	Moda	4
Desviación estándar	0,86893642	Desviación estándar	0,94409381	Desviación estándar	0,88283291	Desviación estándar	0,93980441
Varianza de la muestra	0,75505051	Varianza de la muestra	0,89131313	Varianza de la muestra	0,77939394	Varianza de la muestra	0,88323232

Fuente: elaboración propia

En el caso del análisis de datos del panel sensorial en donde pusieron a prueba 4 características del producto final bebida de kéfir, de acuerdo con el resultado de la media para la característica de olor fue de 3,55, color 3,76, sabor 3,7 y textura 3,84, con una relación muy cercana entre los datos obtenidos.

En el caso de la moda que hace referencia al cuál es más repetido, en el caso del olor fue de 4, en el color 4, sabor se ubica en 3 y, por último, la textura en 4. Para el dato estadístico de la mediana, que indica el valor central, en orden de menor a mayor, el olor 4, color 4, sabor 4 y, por último, la textura 4. En cuanto a la desviación estándar (qué tan lejos se encuentra la muestra de la media) olor $\pm 0,868$, color $\pm 0,944$, sabor $\pm 0,882$ y textura 0,939. El error típico es qué tan lejos se encuentre las muestras de la media, en el caso del olor $\pm 0,086$, color $\pm 0,094$, sabor 0,088 y textura 0,093.

4.4 Características piña convencional y orgánica

Para la caracterización de la piña convencional y orgánica fueron solicitados datos a la empresa proveedora de los desechos de cáscara de piña. A continuación, se mencionan las características que debe cumplir para ser utilizada en la producción, o bien, exportación de la piña fresca (ver fichas técnicas en anexos).

Figura 9

Piña fresca convencional (*Ananas comusus*) sin corona

CARACTERÍSTICA	ESPECIFICACIÓN
Variedad	Piña Convencional Extra Sweet
Textura	Firme y jugosa
Aroma	Característico de la piña fresca
Sabor	Característico de la piña fresca
Color externo	De 1 a 4
Color interno	De 1 a 4
Sólidos Solubles (°Brix)	Mínimo 12
Tamaño	De 4 a 9
Defectos/ Enfermedades	Libre de defectos, plagas y enfermedades tales como: cochinilla, tecla, quema de sol, entre otros.

Fuente: Empresa confidencial

Figura 10

Piña fresca orgánica (*Ananas comusus*) sin corona

CARACTERÍSTICA	ESPECIFICACIÓN
Variedad	Piña Orgánica Extra Sweet
Textura	Firme y jugosa
Aroma	Característico de la piña fresca
Sabor	Característico de la piña fresca
Color externo	De 2 a 4
Color interno	De 2 a 4
Sólidos Solubles (°Brix)	Mínimo 12
Tamaño	De 4 a 9
Defectos/Enfermedades	Libre de defectos, plagas y enfermedades tales como: cochinilla, tecla, quema de sol, entre otros.

Fuente: Empresa confidencial

Como se muestra en la ilustración 10 y 11, los parámetros establecidos para la piña convencional y orgánica son similares, pues la mayor cantidad de variaciones dadas entre los anteriores son en su proceso de cultivo, pues solo se puede utilizar abonos naturales, elaborados con los ingredientes permitidos de acuerdo con la ley que se esté cumpliendo, ya que no se autoriza el uso de sustancias sintéticas (MAG, 2001).

A falta de productos sintéticos que disminuyan las plagas que puedan afectar el cultivo, se debe realizar una planificación y arquitectura de los cultivos, debido a que se pueden realizar cultivos mixtos que repelen o disminuyen la propagación de algunas plagas. Los niveles de °Brix marcan realmente la diferencia, pues la piña convencional suele mantenerse en los 12°Brix, pero la piña orgánica tiende a alcanzar de 17 hasta o 19°Brix (Arroyo, 2022).

4.5 Análisis químicos a la cáscara de piña orgánica y convencional

A continuación, se muestra el resultado de los análisis de pesticidas (carbamatos, organofosfatos y tiofosfatos), tanto de piña orgánica como de piña convencional.

Figura 11

Análisis cualitativo de pesticidas

REPORTE DE LABORATORIO				
MUESTRA (s)	ANALISIS-DESCRIPCION	RESULTADOS	UNIDAD	OTROS
	ANALISIS CUALITATIVO DE PESTICIDA			
Piña Orgánica	Cascaras de piña AGRI- SCREEN TICKET TEST RESIDUOS DE PESTICIDAS: - CARBAMATOS - ORGANOFOSFATOS - TIOFOSFATOS	Positivo		A-S TICKET
Piña no organica	Cascaras de piña AGRI- SCREEN TICKET TEST RESIDUOS DE PESTICIDAS: - CARBAMATOS - ORGANOFOSFATOS - TIOFOSFATOS	Negativo		A-S TICKET

Fuente Laboratorio Microlabs

En la ilustración 12, se muestra los resultados del análisis cualitativo de pesticidas de las principales familias de agroquímicos, tales como carbamatos, organofosfatos y tiofosfatos, en piña orgánica. Se indica la presencia de plaguicidas no permitidos de acuerdo con el Decreto Ejecutivo N°29782-MAG Reglamento de Agricultura Orgánica Costarricense, lo cual pudo ser posible dado que el terreno aún no se encontraba listo para ser cultivado con producto orgánico, o bien, fueron utilizados productos no autorizados, ya que Costa Rica se ha visto involucrada en polémicas con respecto a la piña orgánica (La Nación, 2016). Por motivo de la presencia de los plaguicidas en la cáscara de piña orgánica, se tomó la decisión de utilizar para la elaboración de bebidas solo la cáscara de piña convencional.

Debido a la presencia de pesticidas en la cáscara de piña orgánica, se optó por repetir el análisis con el fin de validar si en el primer análisis los productos analizados se confundió su rotulación. En la ilustración 13 se evidencia que la cascara de piña orgánica sí tiene presencia de plaguicidas.

Figura 12

Segundo análisis cualitativo de pesticida, en cáscara de piña orgánica

REPORTE DE LABORATORIO				
MUESTRA (s)	ANALISIS-DESCRIPCION	RESULTADOS	UNIDAD	OTROS
ANALISIS CUALITATIVO DE PESTICIDA				
Piña Organica	Cascaras de piña			
	AGRI- SCREEN TICKET TEST	Positivo		A-S TICKET
	RESIDUOS DE PESTICIDAS:			
	- CARBAMATOS			
	- ORGANOFOSFATOS			
	- TIOFOSEFATOS			

Fuente Laboratorio Microlabs

4.5 Declaración de las propiedades de función de las bebidas listas para consumir de Kefir y kombucha con la presencia de bacterias ácido lácticas.

Tanto en kéfir como en kombucha se realizaron análisis para determinar la presencia de bacterias ácido lácticas, pues indicarían si el inocular con tibicos de kéfir y SCOBY kombucha, respectivamente, cumple con el mínimo de unidades formadoras de colonias de microorganismos beneficiosos, según el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.01.60:10 Etiquetado Nutricional Productos Alimenticios Preenvasados para Consumo Humano para la población a partir de 3 años (COMIECO, 2011).

A continuación, los resultados obtenidos.

Figura 13

Presencia de bacterias ácido lácticos de Kéfir

REPORTE DE LABORATORIO				
MUESTRA (s)	ANALISIS-DESCRIPCION	RESULTADOS	UNIDAD	OTROS
I. KÉFIR ORGÁNICO				
	Bacterias ácido lácticas	1 170 000	UFC/mL	FDA/BAM

Fuente: Laboratorio Microlabs

Figura 14

Presencia de bacterias ácido lácticos de Kombucha

REPORTE DE LABORATORIO				
MUESTRA (s)	ANALISIS-DESCRIPCION	RESULTADOS	UNIDAD	OTROS
I. KOMBUCHA ORGÁNICA				
	Bacterias ácido lácticas	617 000	UFC/mL	FDA/BAM

Fuente: Laboratorio Microlabs

Las ilustraciones 15 y 16 muestran resultados obtenidos en Kéfir y kombucha. Se loga demostrar que realmente en la inoculación de estas comunidades simbióticas hay microorganismos beneficiosos a la salud del consumidor. Pero cabe recalcar que solo en el kéfir se cuentan con más del mínimo permitido por la legislación de Costa Rica, pues para que una bebida se le asigne la declaración de propiedades de función deben contener un número mayor o igual a 1×10^6 UFC/g de bacterias viables de origen probiótico en el producto terminado hasta el final de la vida útil (COMIECO, 2011) después de transcurridos los 20 días de vida útil, ya que a pesar de utilizar un SCOBY de un proveedor reconocido, dar el tiempo y las condiciones óptimas de fermentación, la kombucha no generó la cantidad mínima de bacterias ácido lácticas después de transcurridos los 20 días de vida útil en comparación con el kéfir, por tanto no se puede declarar que contiene probióticos.

Como se muestra en la ilustración 16, la presencia de bacterias ácido lácticas no fue de acuerdo con lo que solicita la legislación, por lo tanto, se optó por repetir el análisis y verificar si la cantidad de bacterias beneficiosas no era la cantidad requerida por la legislación en la bebida fermentada son SCOBY de kombucha, con sus respectivos 20 días de vida útil.

Figura 16

Segundo análisis de presencia de bacterias ácido lácticos de Kombucha

REPORTE DE LABORATORIO				
MUESTRA (s)	ANALISIS-DESCRIPCION	RESULTADOS	UNIDAD	OTROS
1. KOMBUCHA NORMAL				
	Escherichia coli	< 3	NMP/mL	BAM/FDA
	Bacterias ácido lácticas	26 880	UFC/mL	FDA/BAM
	Detección Molecular Salmonella spp	Negativo	/25mL	AOAC2016.01

Fuente Laboratorio Microlabs

Estas bebidas se almacenaron en las mismas condiciones y envases, a raíz de esto se puede contemplar cómo los tibicos de Kéfir generan una mejor comunidad simbiótica para ser utilizada en fermentaciones, pues aporta mayor presencia de bacterias ácido lácticas. Estas bacterias brindan su uso como probióticos en humanos por medio de un preparado o un producto que contiene cepas de microorganismo viables en cantidades suficientes, que alteran la microflora de algún comportamiento del huésped, por plantación o colonización, generando de esta manera beneficios en el huésped (Sánchez y Tromps, 2014).

4.6 Análisis cuantitativo de dos bebidas comerciales de kombucha, en el mercado costarricense.

A raíz de los análisis realizados en las bebidas generadas con SCOBY de kombucha y las escasas bacterias ácido lácticas, se realizaron dos análisis a bebidas comerciales (bebida A y bebida B), donde la bebida B en su etiqueta indica que su bebida aporta 500 000 000 de bacterias *Lactobacillus*. A continuación, se muestran los análisis realizados a las bebidas:

Figura 15

Recuento bacterias ácido lácticas en una bebida comercial (Bebida 1)

Nº de Referencia:	AL-22/046657	Registrada en:	AGQ Lambda	Cliente (*):	Yoselyn Vargas Barrantes
Análisis:	CR02-00003681-3	Centro Análisis:	AGQ Lambda	Domicilio (*):	Guadalupe, San José
Tipo Muestra:	BEBIDAS Y REFRESCOS	Fecha Recepción:	16/03/2022	Contrato:	QMT-LA220300157
Fecha Inicio:	17/03/2022	Fecha Fin:	19/03/2022	Cliente 3º(*):	---
Descripción(*):	Kombucha de piña				

Fecha/Hora Muestreo:	15/03/2022	Muestreado por:	*Cliente (*)
		Lote (*):	Prueba

RESULTADOS ANALITICOS						
Parámetro	Resultado	Unidades	Incert	CMA	PNT	Lim Cuantif/ Detec (#)
Parámetros Microbiológicos						
Recuento de Bacterias Ácido Lácticas	2,40 x 10 ²	UFC/g	-		ISO 15214:1998	1,00 x 10 ¹ UFC/g

Fuente: Laboratorio Lambda

Figura 16

Recuento bacterias ácido lácticas en una bebida comercial (Bebida 2)

Nº de Referencia:	AL-22/055439	Registrada en:	AGQ Lambda	Cliente (*):	Yoselyn Vargas Barrantes
Análisis:	CR02-00003681-3	Centro Análisis:	AGQ Lambda	Domicilio (*):	Guadalupe, San José
Tipo Muestra:	BEBIDAS Y REFRESCOS	Fecha Recepción:	29/03/2022	Contrato:	QMT-LA220300157
Fecha Inicio:	30/03/2022	Fecha Fin:	01/04/2022	Cliente 3º(*):	---
Descripción(*):	Kombucha de Piña				

Fecha/Hora Muestreo:	29/03/2022	Muestreado por:	*Cliente (*)			
		Lote (*):	2			

RESULTADOS ANALITICOS						
Parámetro	Resultado	Unidades	Incert	CMA	PNT	Lim Cuantif/ Detec (#)
Parámetros Microbiológicos						
Recuento de Bacterias Ácido Lácticas	1,66 x 10 ⁵	UFC/g	-		ISO 15214:1998	1,00 x 10 ¹ UFC/g

Fuente: Laboratorio Lambda

La ilustración 17 evidencia cómo la bebida 1 comercial no podría establecer en su etiquetado un aporte de probióticos o bacterias beneficiosas para el organismo humano, ya que no posee el mínimo establecido por la legislación de bacterias ácido lácticas, según el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.01.60:10 Etiquetado Nutricional Productos Alimenticios Preenvasados para Consumo Humano para la población a partir de 3 años (COMIECO, 2011), se debe aclarar que la etiqueta de la bebida comercial 1, no indica que contiene un aporte nutricional. Esta bebida tiene su envase en lata, especial para alimentos, pero debido a la susceptibilidad que tienen este tipo de bacterias en estos envases, puede perjudicar la prevalencia de las bacterias ácido lácticas a lo largo de su vida útil, generando así una baja presencia de estos microorganismos.

Por el contrario, la bebida 2 sí cumple con lo que indica en su etiquetado y también lo que solicita el RTCA de Etiquetado nutricional de productos alimenticios preenvasados. Esta bebida posee un envase de vidrio, el cual favorece a que las bacterias ácido lácticas no se vean perjudicadas, asimismo, es importante considerar que, al consumir bebidas con alguna propiedad de función, la etiqueta lo declare, pues la empresa proveedora debe validar que, por todo el tiempo de vida útil, el producto cumpla con lo establecido por la legislación.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

En el caso de la kombucha, el ensayo que tuvo el mejor comportamiento en cuanto a la disminución de los °Brix y del pH fue el ensayo 1, pues el pH final de dicho ensayo fue el más próximo en 3,8 debido a que el té adicionado fue 3,76g, 150g de SCOBY y 42g de azúcar; así que estas materias primas (en conjunto con una temperatura no mayor a los 30°C) lograron brindar una bebida aceptable para el consumo humano, además, la disminución de sólidos totales se dio de manera controlada y no con desviaciones irregulares que podrían reflejar contaminación de la bebida.

De acuerdo con los resultados obtenidos de los análisis de pH en los ensayos de kombucha 1, 2, 3 y 4 (promedio de pH 3,72) estos se encuentran en valores que no representan un peligro de inocuidad alimentaria. Lo anterior según lo indicado en el Reglamento Técnico Centroamericano, con respecto a la presencia y ausencia de *Escherichia coli* para los análisis realizados a los ensayos en donde el resultado obtenido debe ser *menor < 3 NMP/g*, y de *Salmonella ssp* debe ser la ausencia. Ver la ilustración 16 del apartado de resultados de la presente investigación (Centroamericano, 2009).

Durante la segunda fermentación de kombucha posterior a la adición de la cáscara de piña, el pH tuvo una tendencia a seguir disminuyendo, con un promedio de 3,8 entre los ensayos, si lo comparamos con las bebidas comerciales tenían un pH 3,1 y 3,3, por lo tanto, los 4 ensayos tenían una similitud a la bebida comercial en cuanto a pH. Adicionalmente, según el análisis estadístico, no se encontró suficiente evidencia para asumir que no existe diferencia significativa en los valores de pH de los grupos de la segunda fermentación de kombucha.

En el caso de los grados Brix de la bebida de kombucha, tuvo una tendencia a aumentar después de que se le agregó la cáscara de piña. De acuerdo con los resultados de los ensayos 1, 2, 3 y 4, el promedio final es de 4,36 en comparación con la kombucha comercial, los grados eran de 4,3 y 5, por lo tanto, existe un grado de similitud entre la bebida comercial y el promedio de los ensayos experimentales. Es importante señalar que por medio de la hipótesis nula y alternativa no se encontró suficiente evidencia en contra para rechazar H_0 en los ensayos, por lo tanto, se asume que no hay una diferencia significativa en los valores de *grados Brix* de los grupos de Fermentación 2 de kombucha.

En el caso del panel sensorial, la variable con mayor aceptación en la bebida de kombucha fue el color, en donde la moda que quiere decir el número que más ocasiones repitió fue el número 4 *Me gusta moderadamente*, en cuanto olor y textura existe una similitud entre los promedios, según se observa en la tabla 9.

En cuanto al panel sensorial de la bebida de kéfir por medio del Gráfico de araña, la variable con mayor aceptación fue la textura, ocupando un segundo puesto el sabor con un promedio de 3,78, lo cual es muy importante para la investigación, pues indica que a los panelistas les gusta moderadamente la bebida de kéfir.

Se logra dar un valor agregado a partir de un subproducto industrial de la piña (cáscara de piña), se determina el grado alimentario para el consumo humano luego de un análisis cualitativo de pesticidas (como se puede observar en el apartado de resultados en la ilustración 12), cuyo resultado es negativo para la presencia de pesticidas.

En el caso de los ensayos de kéfir, se alcanza a las comunidades probióticas con relación a la ilustración 14 en donde se logra observar 1 170 000 UFC/ml y lo que solicita el Reglamento Técnico Centroamericano es 1×10^6 UFC/m, por lo tanto, el valor del ensayo es mayor al valor indicado en el reglamento (RTCA, 2011).

Los ensayos kombucha no alcanzaron los parámetros establecidos por el Reglamento Técnico Centroamericano, cuyo valor es 1×10^6 UFC/m (RTCA, 2011) lo mismo sucedió con la bebida comercial 1, a diferencia de la bebida comercial 2 que sí cumplió.

En el caso de las hipótesis nulas y alternativas para la primera y segunda fermentación, tanto para el kéfir y como para la kombucha los resultados de grados Brix y pH para los grupos tomados se pueden considerar iguales con la excepción

de la hipótesis alternativa en la que al menos existe una relación entre algunos datos, ver anexo 4.

Con los resultados obtenidos de las hipótesis nulas y alternativas, se puede deducir que en el caso de la bebida de kombucha a partir de las 48 horas no sufre cambios significativos, por lo tanto, en una industria procesadora de kombucha extender la cantidad de días u horas podría representarse como pérdida de dinero a causa de tener equipos y personal en uso en un producto que no generará mayores cambios.

De acuerdo a los resultados microbiológicos realizados, sobre la cuantificación de bacterias ácido lácticas, se determina que la elaboración de la bebida con tibicos de kéfir añadiendo la cascara de piña es la viable para replicar, ya que genera la cantidad mínima solicitada en el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.01.60:10 Etiquetado Nutricional Productos Alimenticios Preenvasados para Consumo Humano para la población a partir de 3 años (COMIECO, 2011). y esto puede declararse en la etiqueta, dando un mayor valor nutricional y comercial a la bebida.

Recomendaciones

Durante todo el proceso de elaboración de la bebida no se debe manipular los SCOBY con utensilios o recipientes metálicos, pues estos pueden dejar residuos que al final contaminan y provocan la pérdida de propiedades beneficiosas en los microorganismos inoculados.

Se deben utilizar SCOBY idealmente de proveedores seguros, pues si los microorganismos utilizados no fueron manipulados y obtenidos de manera óptima podría perjudicarse la fermentación, ya que el crecimiento de bacterias ácido lácticas no se podría dar, o bien, sucedería en tiempo mucho más extenso con el riesgo de que la bebida se dañe.

Es vital mantener la temperatura de refrigeración de las bebidas de kombucha y kéfir terminadas entre los 0 °C a 5 °C de manera controlada, evitando romper la cadena de frío, una vez envasada la bebida, pues si esta cadena se rompe, al haber microorganismos vivos en la bebida, la fermentación retoma su proceso, generando una bebida ácida fuera de los parámetros permitidos.

Realizar pruebas a todos los ensayos para determinar la presencia de *Escherichia coli* y *Salmonella ssp* esto con el fin determinar si todas las bebidas son inocuas. En el caso de la presente investigación no se pudo replicar a todos los ensayos debido a su alto costo económico de ₡ 23 000 por muestra. Por lo tanto, se recomienda a la universidad adquirir equipos que faciliten a los estudiantes y docentes la realización de pruebas de laboratorio, pues esto permite un mayor grado de confianza en los resultados y calidad en las investigaciones.

Realizar un recuento total UFC para cada uno de los ensayos a fin de determinar la presencia de probióticos para generar un mayor grado de confiabilidad.

En cuanto a la kombucha, se hizo una comparación con dos bebidas comerciales, en caso de repetir la investigación se recomienda buscar más bebidas comerciales con el fin de tener resultados más confiables.

En el caso de actualizar el plan de estudios de la carrera en el futuro tomar en cuenta más cursos de estadística aplicados en la carrera.

Se recomienda utilizar los tibicos de kéfir para un mayor aprovechamiento de los residuos de la cáscara de piña, ya que la bebida generada con esta comunidad simbiótica logra alcanzar la cantidad mínima requerida de comunidades beneficiosas de salud, de acuerdo al Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.01.60:10 Etiquetado Nutricional Productos Alimenticios Preenvasados para Consumo Humano para la población a partir de 3 años (COMIECO, 2011), por el contrario, con la kombucha no logra alcanzar la cantidad mínima requerida de comunidades beneficiosas para la salud.

VI. REFERENCIAS

- Aedo, V. R. (2011). *Determinación de parámetros de fermentación para la producción de kombucha utilizando una población mixta de microorganismos denominado fermento de té*. (Tesis Profesional de Ingeniería Industrial). Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac, Perú. Disponible en: http://repositorio.unamba.edu.pe/bitstream/handle/UNAMBA/418/T_0029.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Aimaretti, N. y Ybalo, C. (2012). *Revalorización de descartes agroindustriales para la obtención de bioetanol*. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/877/87724141011.pdf>
- Alex, H. (s.f.). *Kombucha Kamp*. Disponible en: <https://www.kombuchakamp.com/ph-kombucha-alkaline-acid-balance>
- Almeida, M. R. (2019). *Kombucha, o novo superalimento?* Disponible en: <https://www.loveat.pt/2019/09/kombucha-o-novo-superalimento.html>
- Álvares, D. O. (2021). *Fermentación*. Disponible en: <https://concepto.de/fermentacion/>
- Anónimo. (2011). La piña: cultivo importante para el país. *La Nación*. Disponible en: <https://www.nacion.com/archivo/la-pina-cultivo-importante-para-el-pais/76UI3TOVLBGADBYS4GO4YL2A/story/>
- Arana, M. V. y Yanos, J. A. (2017). Beneficios del kéfir para la salud. *Revista Científica Mundo de la Investigación y el Conocimiento*. Disponible en: [Users/Hewlett%20Packard/Downloads/Dialnet-BeneficiosDelKefirParaLaSalud-7983595%20\(2\).pdf](https://www.repositorio.unal.edu.co/fileadmin/Facultad_de_Ciencias/Publicaciones/Archivos_Libros/Libros_Farmacologia/Pectinas/pectinas.pdf)
- Arce, M. A. (2019). Piña, banano y café enfrentan difícil 2019 golpeados por exceso de oferta y un clima cambiante. *El Financiero*. Disponible en: <https://www.elfinanciero.com/economia-y-politica/pina-banano-y-cafe-enfrentan-dificil-2019/N7WCTS6F5ZH53JUH46YB2EJNU/story/>
- Ardila, S. F. (2007). *Pectinas: aislamiento, caracterización y producción a partir de frutas tropicales y de los residuos de su procesamiento industrial*. Universidad Nacional de Colombia. Disponible en: http://ciencias.bogota.unal.edu.co/fileadmin/Facultad_de_Ciencias/Publicaciones/Archivos_Libros/Libros_Farmacologia/Pectinas/pectinas.pdf

- Ariza, Y. M. (2017). *Determinación de los umbrales sensoriales de detección, de identificación, de diferenciación y el umbral máximo en el sabor ácido, mediante metodología de elección forzada entre tres alternativas (3-AFC)*. Disponible en: <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/61036/Determinaci%3b3n%20de%20los%20umbrales%20sensoriales%20de%20detecci%3b3n%2c%20de%20identificaci%3b3n%2c%20de%20diferenciaci%3b3n%20y%20el%20umbral%20m%3a1ximo%20en%20el%20sabor%20c%3a1>
- Arroyo, M. D. (2022). En 2021 solo el 1,5% de la piña fresca que se envió desde el país fue orgánica. *Fresh Plaza*. Disponible en: <https://www.freshplaza.es/article/9415840/en-2021-solo-el-1-5-de-la-pina-fresca-que-se-envio-desde-el-pais-fue-organica/>
- Ávila Garavito, E. C. (2019). *Extracción y caracterización de pectina a partir de residuos de cáscaras de piña (Ananas comosus) por el método de hidrólisis ácida*. (Tesis para optar el título de Especialista en procesos de alimentos y biomateriales). Universidad Nacional Abierta y a Distancia, Colombia. Disponible en: <https://repository.unad.edu.co/jspui/bitstream/10596/28389/1/ecavilag.pdf>
- Ávilaz, R. D. y González, C. T. (2011). *La evaluación sensorial de bebidas a base de fruta: una aproximación difusa*. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-48212011000300007
- Avilés, E. V. (2013). *Aplicación de técnicas de inteligencia artificial en la asociación de características físicas de lenguas y sensibilidad a compuestos amargos en la evaluación sensorial de un alimento*. (Tesis de Maestría en Ciencias Alimentarias). Universidad Veracruzana, México. Disponible en: <https://cdigital.uv.mx/bitstream/handle/123456789/46953/ValenciaAvilesErendiri.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Benítez, R. (s. f.). *Pérdidas y desperdicios de alimentos en América Latina y el Caribe*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Disponible en: <https://www.fao.org/americas/noticias/ver/es/c/239393/>
- Bley, C. (2020). Fermentando en casa: cómo hacer kombucha. Disponible: <https://www.latercera.com/practico/noticia/fermentando-en-casa-como-hacer-kombucha/QKUPFQ3A35A73LWAGU53Q7LPIA/#:~:text=%E2%80%9CLa%20kombucha%20tiene%20dos%20fermentaciones,dura%20otros%207%20d%C3%ADas%20m%C3%A1s%E2%80%9D>

- Bogantes, A. y Mora, E. (2011). *Guía para el cultivo de la papaya en Costa Rica* Ministerio de Agricultura y Ganadería. Disponible en: <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/F01-10190.pdf>
- Bolaños, C. V., Miller Ganados, C. y Arguedas González, C. (2020). *Informe: Monitoreo del estado de la piña en Costa Rica para el año 2018*. CONARE - CENAT. Disponible en: https://repositorio.conare.ac.cr/bitstream/handle/20.500.12337/7892/Vargas_C_Informe_monitoreo_pina_CR_ano_2018_2020.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Bonilla, M. E. (2018). *Disminución de la contaminación generada por el desperdicio y deterioro de desechos del cultivo*. Universidad de Costa Rica: Noticias. Disponible en: <https://www.ucr.ac.cr/noticias/2018/06/21/ensilaje-de-rastrojo-de-pina-una-opcion-viable-para-productores-agropecuarios.html>
- Bravo, P. L. (2018). *Producción y estudio dinámico de biopelículas de un consorcio de tíficos aislados a partir de cáscara de piña*. (Tesis de Maestría en Ciencias en Ingeniería Química). Instituto Tecnológico de Orizaba, México. Disponible en: <http://repositorios.orizaba.tecnm.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/298/Tesis%20completa%20Paul.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Brene Peralta, L., Jiménez Morales, M. y Murillo Gramboa, M. (s. f.). *www.itcr.ac.cr*. Disponible en: <https://www.tec.ac.cr/red-costarricense-disminucion-perdidas-desperdicios-alimentos>
- Bueno, J. y Maesse, M. (2013). Los funcionales no se rinden. *Tecnifood*, 87. Disponible en: <http://digital.csic.es/bitstream/10261/100244/1/Probi%C3%B3ticos%20y%20prebi%C3%B3ticos%20en%20leches%20fermentadas.pdf>
- Caja Costarricense de Seguro Social. (s. f.). *Norma institucional para el manejo de desechos anatomopatológicos*. Disponible en: <http://www.aesscr.com/Norma%20institucional%20para%20el%20manejo%20de%20desechos%20anatomopatol%C3%B3gicos.pdf>
- Cajal, A. (2018). *Fermentación butírica: proceso, organismos y productos*. lifeder.com. Disponible en: <https://www.lifeder.com/fermentacion-butirica/>
- Calderón, M. L. y Díaz, S. B. (2019). La bioquímica y fisiología del sabor. *Revista de Educación Bioquímica* 38(4), 100-1104. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revedubio/reb-2019/reb194c.pdf>

- Cárdenas Baquero, G. D. y Arrazola Paternina, G. (2015). Frutas tropicales: fuente de compuestos bioactivos naturales en la industria de alimentos. *Ingenium*, 17(33), 29-40, Disponible en: <http://www.revistas.usb.edu.co/index.php/Ingenium/article/view/2152/1884>
- Carrillo, L. y Audisio, C. (2007). *Manual de Microbiología de los Alimentos*. Disponible en: <http://www.microbiota.com.ar/?q=node/10>
- Castro, C. B., Díaz Moreno, C. y Gutiérrez Cortés, C. (2017). Probióticos y prebióticos en matrices de origen vegetal: Avances en el desarrollo de bebidas de frutas. *Revista Chilena de Nutrición*, 44(4), 383-392. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rchnut/v44n4/0716-1549-rchnut-44-04-0383.pdf>
- Caycedo, L. L. y Corrales, L. C. (2021). *Las bacterias, su nutrición y crecimiento: una mirada desde la química*. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-24702021000100049&lng=pt&tlng=es#:~:text=Para%20crecer%2C%20las%20bacterias%20necesitan,y%20algunas%20sales%20minerales%203.
- Cazau, P. (2006). *Introducción a la investigación en Ciencias Sociales*. Rindinuskín, Argentina. Disponible en: <http://alcazaba.unex.es/asg/400758/MATERIALES/INTRODUCCI%C3%93N%20A%20LA%20INVESTIGACI%C3%93N%20EN%20CC.SS..pdf>
- CDC. (2021). *Cómo hacer que el agua sea segura en una emergencia*. Disponible en: <https://www.cdc.gov/healthywater/emergency/es/drinking/making-water-safe.html>
- Céspedes, A. V., Watler, W., Morales, M. y Vignola, R. (2017). *Prácticas efectivas para la reducción de impacto por eventos climáticos en el cultivo de banano*. Disponible en: <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/F01-8205.pdf>
- Chaves, A. (s. f.). *La industria de la piña: motor económico y social de Costa Rica*. Disponible en: <https://canapep.com/pina-economico-social-costa-rica/>
- COMEX. (2011). *Resolución N° 277-2011 (COMIECO-LXI) del 2 de diciembre de 20211 y su anexo: Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.01.60:10 Etiquetado Nutricional Productos alimenticios Preenvasados para Consumo Humano para la Población a partir de 3 años*. Disponible en: http://www.cita.ucr.ac.cr/sites/default/files/archivos_adjuntos/Reglamento%20T%C3%A9cnico%20Centroamericano%20de%20Etiquetado%20Nutricional%20de%20Productos%20Alimenticios%20Preenvasados.pdf

- COMIECO. (2009). *Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Reglamento Técnico Centroamericano*. Disponible en: https://www.comex.go.cr/media/3480/279_anex-243-rtca-67-04-50-08-microbio-may-09.pdf
- COMIECO. (2011). *Etiquetado Nutricional Productos Alimenticios Preenvasados para Consumo Humano para la población a partir de 3 años. Reglamento Técnico Centroamericano*. Disponible en: http://www.cita.ucr.ac.cr/sites/default/files/archivos_adjuntos/Reglamento%20T%C3%A9cnico%20Centroamericano%20de%20Etiquetado%20Nutricional%20de%20Productos%20Alimenticios%20Preenvasados.pdf
- Coto, K. O. (2019). *El problema ambiental más grave en Costa Rica es el consumo*. Universidad de Costa Rica: Noticias. Disponible en: <https://www.ucr.ac.cr/noticias/2019/07/16/el-problema-ambiental-mas-grave-en-costa-rica-es-el-consumo.html>
- Díaz, A. y Uría, R. (2009). *Buenas Prácticas de Manufactura: una guía para pequeños y medianos agroempresarios*. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. Disponible en: <http://orton.catie.ac.cr/repdoc/A5294e/A5294e.pdf>
- Domínguez, M. R. (2007). *Guía para la Evaluación Sensorial de Alimentos*. Instituto de Investigación Nutricional – AgroSalud. Disponible en: <http://lac.harvestplus.org/wp-content/uploads/2008/02/Guia-para-la-evaluacion-sensorial-de-alimentos.pdf>
- dos Santos Eduardo, A. J. (2007). *El comportamiento del comportamiento cinético de microorganismos de interés en seguridad alimentaria con modelos matemáticos*. (Tesis para optar por el grado de Doctor en Veterinaria) Universidad Autónoma de Barcelona, España. Disponible en: <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/5691/ajse1de1.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Espinosa Manfugás, J. (2007). *Evaluación Sensorial de los Alimentos*. Cuba: Editorial Universitaria. Disponible en: https://books.google.co.cr/books?hl=es&lr=&id=heDzDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP6&dq=cuales+son+los+sentidos+del+ser+humano+para+un+para+un+panel+sensorial&ots=yiNpS9voZD&sig=EQ_bY-KaJVCpj97ufxe8APtEEX8#v=onepage&q=cuales%20son%20los%20sentidos%20del%20ser%20human
- Etecé. (2021). *Bacterias*. Equipo editorial, Etecé, Argentina. Disponible en: <https://concepto.de/bacterias/>

- Fajardo, D. A. (2014). *Análisis sensorial de un alimento con umami, para ser utilizado como alternativa saborizante en la disminución de la ingesta de sodio*. (Tesis de Magister en Tecnología de los Alimentos) Universidad Católica de Córdoba, Argentina. Disponible en: http://pa.bibdigital.uccor.edu.ar/136/1/TM_Fajardo.pdf
- FAO. (2013). *Huella del despilfarro de alimentos*. Disponible en: <http://www.fao.org/3/ar428s/ar428s.pdf>
- FAO. (2015). *Iniciativa mundial sobre la reducción de la pérdida y el desperdicio de alimentos*. Disponible en: https://www.tec.ac.cr/sites/default/files/media/doc/3_iniciativa_mundial_sobre.pdf
- FAO. (2016). *Manual para manipuladores de alimentos. Instructor*. Disponible en: <https://www.fao.org/3/i5896s/i5896s.pdf>
- FAO. (2019). *Producción y exportación de frutas tropicales brindan oportunidades de crecimiento para Costa Rica*. Disponible en: <https://www.fao.org/costarica/noticias/detail-events/es/c/1201151/>
- FAO. (s.f.). *Formulación y fabricación de los alimentos*. Disponible en: <https://www.fao.org/3/y1453s/y1453s0c.htm>
- FAO. (s.f.). *¿Qué es la Agricultura orgánica?* Disponible en: <https://www.fao.org/3/ad818s/ad818s03.htm>
- Fernández Pérez, M. P. (2017). *Estudio de la comunidad microbiana del kéfir y aislamiento de microorganismos con actividad antimicrobiana*. (Tesis de Grado en Biología) Universidad de Jaén, España. Disponible en: http://tauja.ujaen.es/bitstream/10953.1/5487/1/TFG_Fern%C3%A1ndez_P%C3%A9rez_Mar%C3%ADda_del_Pilar.pdf
- Ferras, M. C. (2015). *Escuela de alimentación*. Disponible en: <http://observatorio.escueladealimentacion.es/entradas/innovacion-alimentaria/vida-util-de-los-alimentos>
- Figueroa, J. C. y Rodríguez, J. A. (2017). *Avances en el estudio de la bioactividad multifuncional del kéfir*. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/339/33951621003.pdf>
- Florían, E. (2015). *Protocolo para el manejo Integral de residuos biodegradables*. Disponible en: <https://ogabogota.unal.edu.co/wp-content/uploads/2016/08/Protocolo-biodegradables.pdf>

- Fuente, N. M. y Barboza, J. E. (2010). Inocuidad y bioconservación de alimentos. *Acta Universitaria*, 20(1), 43-52. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/416/41613084005.pdf>
- Fuentes, L. B., Acevedo, D. y Gelvez, V. M. (2015). Alimentos funcionales: impacto y retos para el desarrollo y bienestar de la sociedad colombiana. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 13(2), 140-149. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v13n2/v13n2a16.pdf>
- Gamboa Porras, J. y Marín Méndez, W. (2012). Fenología, producción y contenido de almidón en árboles de mango en Guanacaste, Costa Rica. *Agonomía Mesoamericana*, 23(1). Disponible en: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1659-13212012000100010
- Ganés, D. y Médina, E. (2006). Alimentación nitrogenada de la levadura. *Revista Internet de Viticultura y Enología*, 3/2. Disponible en: <https://www.infowine.com/intranet/libretti/libretto5593-02-1.pdf>
- García, S. P., Hernandez, H. S., Cornejo, M. M. y López, J. R. (2017). Estudio de la fermentación de kéfir de agua de piña con tibicos. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 16(2), 405-414. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/620/62052087007.pdf>
- Gerard, L. M. (2015). Caracterización de bacterias del ácido acético destinadas a la producción de vinagre s de frutas. (Tesis Doctoral en Tecnología de Alimentos). Universidad Politécnica de Valencia, España. 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%20vinagre%20s%20de....pdf?sequence=1>
- Gloria, S. P. y Zambrano, J. C. (2011). Diseño de proceso de biorrefinería para la producción de té de kombucha y cartón reforzado con nanocelulosa bacteriana. (Tesis para optar por el grado de Ingeniero Químico). Universidad De Guayaquil, Ecuador. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/57471/1/BINGQ-IQ-21P56.pdf>
- Gómez, J. A. y Villasís, M. Á. (2016). El protocolo de investigación III: la población de estudio. *Revista Alergia México*, 63(2), 201-206. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/4867/486755023011.pdf>
- González Espinoza, J. X. (2019). *Diagrama de flujo y su relacion con la vida cotidiana*. Universidad Técnica de Machala, Ecuador. Disponible en: http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/14847/1/E-4389_GONZALEZ%20ESPINOSA%20JENNIFER%20XIOMARA.pdf

- González, M. G. (2012). *Residuos biosanitarios*. Consultoría de Técnicas Ambientales, S.L. Disponible en: <http://www.conama11.vsf.es/conama10/download/files/conama11/CT%202010/1896707563.pdf>
- González, P. (s.f.). *Papaya: propiedades y beneficios*. Health Keeper. Disponible en: <https://www.axahealthkeeper.com/blog/papaya-propiedades-y-beneficios/>
- González, T. (2018). Bebidas fermentadas nutraceúticas elaboradas a partir del hongo Kombucha y su uso potencial en el tratamiento de Síndrome metabólico. Disponible en: <http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume3/4/4/56.pdf>
- Gutiérrez Rodríguez, J. F. y Ramírez Godínez, J. (2021). *Sabores Básicos*. Material académico: Turismo y Gastronomía. Universidad Autonoma del Estado de Hidalgo, México. Disponible en: <https://repository.uaeh.edu.mx/bitstream/bitstream/handle/123456789/19903/sabores-basicos.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Hernández Ramírez, G. y Ortega Ibarra, E. (2021). *Composición nutricional y compuestos fitoquímicos de la piña (Ananas comosus) y su potencial emergente para el desarrollo de alimentos funcionales*. ICAP. Disponible en: <https://repository.uaeh.edu.mx/revistas/index.php/icap/article/view/7232>
- Hernandez, E. (2005). *Evaluación Sensorial*. Universidad Nacional Abierta y a Distancia, Colombia. Disponible en: <https://mapazolivanoconalep.files.wordpress.com/2013/08/4902evaluacion-sensorial.pdf>
- Hernández, E. M. (2011). *Curso de análisis sensorial de alimentos*. Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación, México. Disponible en: <https://digital.csic.es/bitstream/10261/63961/1/358508.pdf>
- Hernández, T. M. (2018). *Caracterización fisicoquímica de un polímero obtenido a partir de tíficos (Kéfir de agua) y su evaluación como agente encapsulante de bacillus Thuringiensis*. (Tesis de Maestría en Ciencias con Orientación en Microbiología). Universidad Autónoma de Nuevo Leónm México. Disponible en: <http://eprints.uanl.mx/15890/1/1080290149.pdf>

- Herrera, L. A. (2008). *Propiedades funcionales de los microorganismos del kéfir*. (Monografía para optar por el título de Ingeniero en Ciencia y Tecnología de Alimentos). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, México. Disponible en: <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/489/62113s.pdf?sequence=1>
- Houston Health Department. (2018). Manual de certificación del gerente de servicio de alimentos. Disponible en: https://www.houstontx.gov/health/Food/documents/FSMC_Spanish_manual_2018.pdf
- Hueso Martín, J. J. y Salinas Romero, I. (2015). El cultivo de la papaya. Grupo Cooperativo Cajamar. Disponible en: <https://www.cajamar.es/storage/documents/009-papaya-1441794549-6f9d7.pdf>
- ICONTEC. (2009). Análisis Sensorial. Metodología. Métodos del perfil del sabor. Norma Técnica Colombiana. Disponible en: <https://docplayer.es/27741297-Norma-tecnica-colombiana-3929.html>
- Iliana, C. (2007). El hongo Kombucha. Bol. Soc. Micología 31, 269-272 Disponible en: <https://ebuah.uah.es/dspace/bitstream/handle/10017/7991/1.%20El%20hongo%20Kombucha.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Inder. (2018). Productores de Buenos Aires y Coto Brus reciben apoyo del Programa Fomento a la Producción y Seguridad Alimentaria del Inder. Disponible en: <https://www.inder.go.cr/noticias/comunicados/2018/N162-2018-buenos-aires-coto-brus-reciben-ayuda-seguridad-alimentaria.aspx>
- INTA. (s.f.). Disponible en: https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta-analisis_sensorial_de_los_alimentos_fruticultura.pdf
- Jacinto, R. J. y Alipio, O. (2017). Métodos científicos de indagación y de construcción del conocimiento. Revista Escuela de Administración de Negocios, (82),1-26. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/206/20652069006.pdf?fbclid=IwAR1kyKCilgFXf>
- Jaramillo, G. H. y Zapata, L. M. (2008). Aprovechamiento de los residuos sólidos orgánicos en Colombia. (Monografía para optar el título de Especialistas en Gestión Ambiental) Universidad de Antioquia, Colombia. Disponible en: <http://bibliotecadigital.udea.edu.co/bitstream/10495/45/1/AprovechamientoRSOUenColombia.pdf>

- Jones, J. y Sofos, J. (2015). Manual de entrenamiento para empleados sobre la seguridad alimentaria. Disponible en: https://twu-ir.tdl.org/bitstream/handle/11274/7065/SPANISH_Employee%20Manual.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
- Kombucha-Té. (s.f.). El pH & la Kombucha. Disponible en: <https://kombucha-te.es/el-ph-kombucha/>
- Kumar, Vikas y Joshi, Vinod. (2016). Kombucha: Technology, Microbiology, Production, Composition and Therapeutic Value. International Journal of Food and Fermentation Technology. 6 13-24. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/309632876_Kombucha_Technology_Microbiology_Production_Composition_and_Therapeutic_Value
- Lasso, D. (2016). Instructivo para el manejo seguro de cortopunzantes y guardian de seguridad. Fundación Universitaria Navarra. Disponible en: <https://uninavarra.edu.co/wp-content/uploads/2016/06/ST-IT-02-INSTRUCTIVO-MENEJO-SEGURO-DE-CORTOPUNZANTES-Y-GUARDIAN-DE-SEGURIDAD.pdf>
- López Peña, K. A. y Mora Vega, R. (2018). Análisis de la disponibilidad de piña orgánica y jugo de piña orgánica en Costa Rica. Universidad de Costa Rica. Disponible en: <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/pensamiento-actual/article/view/35624/36356>
- López, L. (2016). Curva de crecimiento bacteriano en la producción de proteínas recombinantes. Material Académico. Universidad Nacional de Asunción. Disponible en: https://www.conacyt.gov.py/sites/default/files/Transferencia_de_conocimientos_Liz_Lopez_2015.pdf
- López-Rojo, J.P., Hernández-Sánchez, H., García-Pinilla, S. y Cornejo-Mazón, M. (2017). Estudio de la fermentación de kéfir de agua de piña con tibicos. Revista Mexicana de Ingeniería Química, 16(2),405-414. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=62052087007>
- Machado, M. (2014). Piñas orgánicas en el Perú. BIOSEMBRIOS. Disponible en: <https://biosembrios.com/pinas-organicas-peru/>
- Mafugás, J. E. (2007). Evaluación Sensorial de los Alimentos. Cuba: Universitaria.
- Malpica, F. S. y Shirai, K. M. (2013). Manual de prácticas de laboratorio: Tecnología de Fermentaciones Alimentarias. Universidad Autónoma Metropolitana, México. Disponible en: <http://publicacionescbs.izt.uam.mx/DOCS/fermentaciones.pdf>

- Manotoa Betancourt, J. C. y Calvopiña Toapanta, C. G. (2020). Obtención de ácido láctico a partir de lactosuero y almidón de papa mediante fermentación láctica. (Tesis para optar por el título en Ingeniería Química). Universidad Central del Ecuador, Ecuador. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/22735/1/T-UCE-0017-IQU-109.pdf>
- Mañay, D. J. (2015). Determinar la desnaturalización de la proteína de la leche en la etapa de evaporación durante la producción de la leche en polvo. (Tesis de Maestría en Gestión de la Calidad y Seguridad Alimentaria) Universidad de Azuay, Ecuador. Disponible en: <https://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/4577/1/11064.PDF>
- Martínez Cardozo, C. y Cayón Salinas, G. (2016). Composición química y distribución de materia seca del fruto en genotipos de plátano y banano. *Corpoica Cienc Tecnol Agropecuaria*. 17(2), 217-227. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/ccta/v17n2/v17n2a06.pdf>
- Medina, J. y García, F. (2014). Obtención de ácido láctico por fermentación del mosto del fruto de cují (*prosopis juliflora*) y su posterior poli-condensación con zinc metálico a poli (ácido láctico) (pla). *Revista Ingeniería UC*, 21(2), 52-59. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/707/70732656007.pdf>
- Meire. (2018). Diagrama de Flujo (Flujograma) de Proceso. *blogdecalidad.com* Disponible en: <https://blogdelacalidad.com/diagrama-de-flujo-flujograma-de-proceso/>
- Mejía, J. B. y Montoya, R. P. (2016). Levaduras Termotolerantes: aplicaciones industriales, estrés oxidativo y respuesta antioxidante. *Información Tecnológica* 27(4), 3-16. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0718-07642016000400002&script=sci_arttext&tlng=p
- Méndez, Á. (27 de Enero de 2011). Fermentación. *LaGuía2000.com*. Disponible en: <https://quimica.laguia2000.com/general/fermentacion>
- Merchan Sornoza, J. S. y Tigre Chango J. C. (2012). Obtención de celulosa bacteriana a base de kombucha por sustitución de té negro por té de cáscara de café. (Tesis por el grado de Ingeniero Químico). Universidad de Guayaquil, Ecuador. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/45570/1/BINGQ-IQ-19P50.pdf>

- Meyer, R. (2018). Manejo de desechos químicos para laboratorios. Instituto Nacional de Metrología. Disponible en: https://www.ptb.de/cms/fileadmin/internet/fachabteilungen/abteilung_9/9.3_internationale_zusammenarbeit/publikationen/Get_an_Insight_into_Our_Instruments/PTB_Info_Chemical-Waste-Management_SP.pdf
- Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2001). Reglamento de Agricultura Orgánica Asamblea Legislativa de la República de Costa Rica N° 29782-MAG. Disponible en: <http://www.mag.go.cr/legislacion/2001/de-29782.pdf>
- Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2007). Caracterización agocadena de mango. Disponible en: <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/E70-10280.pdf>
- Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2016). Memoria del III Congeso Nacional de Extensión Agropecuaria. Disponible en: <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/C20-10873.pdf>
- Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2019). Estudio del estado de la producción sostenible y propuesta de mecanismos permanentes para el fomento de la producción sostenible. Disponible en: <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/P01-0851.pdf>
- Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2019). Piña. Disponible en: <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/F01-0658pina.pdf>
- Ministerio de Economía, Industria y Comercio. (2019). Estado de la situación PYME. Disponible en: http://www.conicit.go.cr/prensa/boletincyt/boletines_cyt/boletin_196/Estado_Situacion_PYME-MEIC.pdf
- Monar, M. y Dávalos, I. (2014). Caracterización química y microbiológica del kéfir de agua artesanal de origen ecuatoriano. Universidad San Francisco de Quito. Disponible en: <https://revistas.usfq.edu.ec/index.php/avances/article/view/160/162>
- Mora, Francisco Javier Vargas. (2011). Elaboración de una bebida refrescante fermentando la simbiosis kombucha con el objeto de mejorar la calidad de vida de los consumidores de bebidas no alcohólicas. (Tesis de Ingeniería Bioquímica). Universidad Técnica de Ambato, Ecuador. Disponible en: <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/1759/1/SBQ5%20Ref3399.pdf>

- Mora, W. I. (2019). Aplicación de los descriptores sensoriales de chiles mexicanos (*Capsicum annuum* L.) en la cocina contemporánea. Caso: chipotle, pasilla y mulato. (Tesis de Licenciatura en Gastronomía). Universidad Autónoma del Estado de México, México. Disponible en: http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/104534/ilovepdf_merge_d.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Nación.com (2016). Costa Rica: Piña orgánica vs. convencional. Centralamericadata. Disponible en: https://www.centralamericadata.com/es/article/home/Costa_Rica_Pia_orgnica_vs_convencional
- Nava, L. E. (2018). Caracterización metabólica y cinética de la levadura autóctona *Pichia kudriavzevii* ITV-S42. (Tesis Doctoral en Ciencias de los Alimentos). Instituto Tecnológico de Veracruz, México. Disponible en: <https://rinacional.tecnm.mx/bitstream/TecNM/1592/1/2018%20Libria%20Ele na%20D%C3%ADaz%20Nava.pdf>
- Neira, R. C. (2012). Fermentaciones Industriales. (Informe de investigación). Universidad Nacional del Callao, Perú. Disponible en: https://unac.edu.pe/documentos/organizacion/vri/cdcitra/Informes_Finales_Investigacion/IF_MAYO_2012/IF_BAILON%20NEYRA_FIPA.pdf
- OhMyKefir.Com. (2022). Disponible en: <https://ohmykefir.com/como-hacer-kéfir-de-agua/>
- Ojeda, N. (2018). ¿Qué son las características organolépticas de los alimentos? CEAC, España. Disponible en: <https://www.ceac.es/blog/que-son-las-caracteristicas-organolepticas-de-los-alimentos>
- ONU. (2021). Se desperdicia 17% de todos los alimentos disponibles a nivel del consumidor. Disponible: <https://www.unep.org/es/noticias-y-reportajes/comunicado-de-prensa/onu-se-desperdicia-17-de-todos-los-alimentos-disponibles>
- Organización Mundial de la Salud. (2007). Manual sobre las cinco claves para la inocuidad de los alimentos. Disponible en: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/43634/9789243594637_spa.pdf
- Organización Panamericana de la Salud. (2014). Manual de Capacitación para Manipuladores de Alimentos. Disponible en: <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/manual-manipuladores-alimentos-2014.pdf>

- Organización Panamericana de la Salud. (2020). Educación en inocuidad de alimentos: Glosario de términos. Disponible en: https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10433:educacion-inocuidad-alimentos-glosario-terminos-inocuidad-de-alimentos&Itemid=41278&lang=es
- Organización Panamericana de la Salud. (s.f.). Peligros biológicos: Inocuidad de Alimentos - Control Sanitario - HACCP. Disponible en: https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10838:2015-peligros-biologicos&Itemid=41432&lang=es
- Ortega, C. A. (2021). Desarrollo de un envase térmico biodegradable a base de harinas de cascarilla de (*Oryza sativa*), cáscara de mango (*Mangifera indica*) y almidón de yuca (*Manihot esculenta*). (Tesis para optar por el título de Ingeniero Agroindustrial). Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, Ecuador. Disponible en: <http://201.159.223.180/bitstream/3317/16139/1/T-UCSG-PRE-TEC-CIA-77.pdf>
- Ortega Ibarra, E. y Hernández Jiménez, A. (2017). Seguridad alimentaria y nutricional, higiene e inocuidad: fundamentos microbiológicos. UVserva, 3. Disponible en: <https://uvserva.uv.mx/index.php/Uvserva/article/view/2542/4424>
- Ortega, V. V. (2014). Elaboración de dos bebidas, fermentadas con gránulos de kéfir en agua y leche, para corroborar si son bebidas probióticas según la norma INEN 2395-2011. (Tesis para optar por el título de Químico y Farmacéutico). Universidad de Guayaquil, Ecuador. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/7976/1/BCIEQ-%20T-%200006%20Bola%20c3%b1os%20Ortega%20Ver%20c3%b3nica%20Valeria.pdf>
- Ortegón Cortázar, L. y Gómez Rodríguez, A. (2016). Gestión del marketing sensorial sobre la experiencia del consumidor. Revista de Ciencias Sociales (Ve), XXII(3), 67-83. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=28049146006>
- Ortiz, F. A. y Arias Arroyo, G. (2007). Estudio comparativo del efecto de las temperaturas constante y variable ambiente en la producción de biomasa proveniente de la microbiota del gano de kéfir. Ciencia e Investigación, 10(1), 35-39. Disponible en: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/view/5654/5683>

- Palacios Vallejos, K. y Álcivar Álcivar, L. (2019). Diseño de un biorreactor para la obtención de ácido acético a partir del vino de mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.). Revista de Ciencias Agropecuarias "ALLPA". Disponible en: <file:///C:/Users/Hewlett%20Packard/Downloads/4-Texto%20del%20art%C3%ADculo-101-3-10-20200908.pdf>
- Palacios, A. B. (2018). Análisis multi-sensorial: Integración de los sentidos y la percepción del gusto. (Tesis de Licenciatura en Arte Culinario y Administración de Alimentos y bebidas), Universidad San Francisco de Quito, Ecuador. Disponible en: <https://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/7892/1/141095.pdf>
- Pallarés, M. I. (2016). Innovación en producto alimentario y plan de emprendimiento. (Tesis de Máster Universitario en Tecnología e Industria Alimentaria) Universidad de Sevilla, España. Disponible en: https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/64387/TFM_MIP_innovacion.pdf;jsessionid=942B33573962AB3ED5B75AFBA7BBF1B5?sequence=1
- Paúl, F. (2021). Las impactantes cifras que deja el desperdicio de comida en el mundo (y cuáles son sus efectos). BBC NEWS. Disponible en: <https://www.bbc.com/mundo/noticias-56322961>
- Pelaez, Á. M. (2013). Estudio de la capacidad de los microorganismos del kéfir, para inhibir el desarrollo fúngico y para secuestrar micotoxinas. (Tesis Doctoral) Universidad Nacional de la Plata, Argentina. Disponible en: http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/32500/Documento_completo_.pdf?sequence=1
- Sistema Costarricense de información Jurídica. (2010). Ley para la Gestión Integral de Residuos N° 8839. Disponible en: http://www.pgweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=68300&nValor3=83024
- Peralta, L. B., Jiménez, M. M. y Gramboa, M. M. (s.f.). Red Costarricense para la Disminución de Pérdidas y Desperdicios de Alimentos. Disponible en: <https://www.tec.ac.cr/red-costarricense-disminucion-perdidas-desperdicios-alimentos>
- Perez, M. (2021). Definición de bacteria. Disponible en: <https://conceptodefinicion.de/bacteria/>
- Pérez Montaña, E. (2011). Procedimiento para la gestión y disposición de residuos sólidos y peligrosos. Universidad de Los Andes. Disponible en: <https://gerenciocampus.uniandes.edu.co/content/download/2304/11870/file/5.%20Disposicion%20de%20Residuos.pdf>

- Pico Rubio, M. C. (2007). Efecto antibacteriano del té Manchurian fungus sobre *Streptococcus mutans*. Estudio in vitro. (Tesis para optar por el título de Odontóloga) Universidad Central de Ecuador, Ecuador. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/13757/1/T-UCE-0015-844-2017.pdf>
- Pretell, A. M. y Urraca, E. M. (2012). Características fisicoquímicas y aceptabilidad general de un kéfir de leche de vaca (*Bos taurus*) y de cabra (*Capra hircus*). Disponible en: <http://journal.upao.edu.pe/PuebloContinente/article/view/359/326>
- PROCOMER. (2020). Alimentos frescos y procesados orgánicos certificados con rápido crecimiento a nivel mundial. Disponible en: <https://www.procomer.com/noticia/exportador-noticia/alimentos-frescos-y-procesados-organicos-certificados-con-rapido-crecimiento-a-nivel-mundial/>
- Puerta, G. I. (2010). Fundamentos del proceso de fermentación en el beneficio del café. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Colombia. Disponible en: <https://www.cenicafe.org/es/publications/avt0402.pdf>
- Quirós, B. A. (2013). Producción del bioetanol a partir del corazón y la cáscara de la piña utilizando la levadura *Saccharomyces Cerevsiae*. (Tesis de Licenciatura en Ingeniería Química) Universidad de Costa Rica, Costa Rica. Disponible en: <http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/bitstream/123456789/1861/1/35302.pdf>
- Ramírez, R. I. (2013). Tecnología de frutas y hortalizas. Contenido didáctico del curso: 301107 – Tecnología de Frutas y Hortalizas. Universidad Nacional Abierta y a Distancia, Colombia. Disponible en: https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/9075/301107_Tecnolog%EDa%20de%20frutas%20y%20hortalizas_Modulo.pdf;jsessionid=48274B19E592B3E1BD2661D5E6D3F9C7.jvm1?sequence=1
- Red Costarricense para la Disminución de Pérdidas y Desperdicios de Alimentos (s.f.). Escuela de Agronegocios. Disponible en: <https://www.tec.ac.cr/red-costarricense-disminucion-perdidas-desperdicios-alimentos>
- Reyes, K. A. (2015). Cuantificación de vinagre Disponible en: cáscara de piña por medio de fermentación alcohólica y acética, y su incidencia en la productividad, en una empresa guatemalteca. (Tesis de Maestría en Gestión Industrial) Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala. Disponible en: <http://www.repositorio.usac.edu.gt/4722/1/KARLA%20ANABELLA%20REYES.pdf>

- Rodríguez, F. G. (2012). Disipación y efectos de nuevos fungicidas sobre la fermentación y calidad de vinos tintos de Monastrell. (Tesis Doctoral en Tecnología de la Alimentación y Nutrición) Universidad Católica San Antonio, España. Disponible en: <http://repositorio.ucam.edu/bitstream/handle/10952/729/Tesis.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Rodríguez, Z. D. (2018). Fermentación butírica. Disponible en: https://kupdf.net/download/fermentacion-butirica_5be7c5a3e2b6f5743839f306_pdf
- Rojo, J. P. (2016). Efecto de la formulación del kéfir de agua en algunos productos de fermentación con tibicos. (Tesis para optar por el título de Ingeniero/A Químico). Instituto Politécnico Nacional, México. Disponible en: <https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/25012/L%C3%93PEZ%20ROJO%20JUAN%20PABLO.pdf?sequence=4&isAllowed=y>
- Rosero, A. B. y Regalado, L. A. (2016). Establecimiento de parámetros para la obtención de vinagre de piña Ananas Comosus en un biorreactor tipo Batch. (Tesis para optar por el título de Ingeniero/A Agroindustrial) Universidad Técnica del Norte, Ecuador. Disponible en: <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/5638/1/03%20EIA%20396%20TRABAJO%20GRADO.pdf>
- RTCA. (2008). Reglamento Técnico RTCR 414:2008 Yogurt para Consumo Directo. Disponible en: http://www.pgweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=65017&nValor3=95230&strTipM=TC
- RTCA. (2011). Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 67.01.60:10 Etiquetado Nutricional, Productos Alimenticios Preenvasados para Consumo Humano para la Población a partir de 3 años. Disponible en: http://www.cita.ucr.ac.cr/sites/default/files/archivos_adjuntos/Reglamento%20T%C3%A9cnico%20Centroamericano%20de%20Etiquetado%20Nutricional%20de%20Productos%20Alimenticios%20Preenvasados.pdf
- Rugrama, F. A. y Castillo, Y. (2010). Un enfoque práctico para la inocuidad alimentaria. Microbiología de los alimentos. Material del curso Microbiología de los alimentos. Universidad Nacional de Ingeniería, Nicaragua. Disponible en: <https://avdiaz.files.wordpress.com/2010/02/documento-microbiologia.pdf>

- Sánchez, J. (2015). Peligros químicos: *Inocuidad de Alimentos - Control Sanitario - HACCP*. Organización Panamericana de la Salud. Disponible en: https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10849:2015-peligros-quimicos&Itemid=41432&lang=en
- Sánchez, J. M. (2020). El concepto de simbiosis desde la relación entre hongos formadores de micorrizas y raíces de las plantas: estrategia teórico práctica para grado quinto. (Tesis de Magister en Enseñanza de las Ciencias Exactas y Naturales). Universidad Nacional de Colombia. Disponible en: <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/77967/1030531274.2020.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Sánchez, L. y Tromps, J. (2014). Caracterización in vitro de bacterias ácido lácticas con potencial probiótico. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2014000200008#:~:text=Las%20propiedades%20beneficiosas%20de%20las,aplicaci%C3%B3n%20como%20probi%C3%B3tico%20en%20animales.
- Sánchez, M. Á. y Ahuja Mendoza, S. (2015). Producción de Piña Cayena Lisa y MD2 (*Ananas comosus* L.) en condiciones de Loma Bonita, Oaxaca. Universidad del Papaloapan, México. Disponible en: https://www.ecorfan.org/handbooks/Ciencias-BIO-T_I/Handbook_Biologia_y_Agonomia_T1_V1_109_119.pdf
- Santamaría, E. A. (2016). Aumenta número de empresas Pymes que le venden al Estado. Ministerio de Economía, Industria y Comercio. Disponible en: <https://www.meic.go.cr/meic/comunicado/847/aumenta-numero-de-empresas-pymes-que-le-venden-al-estado.php>
- Sistema Costarricense de información Jurídica. (2015). Reglamento para la calidad del Agua Potable. Disponible en: http://www.pgweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=80047&nValor3=101480&strTipM=TC
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2018). Residuos. Sistema Nacional de Información Ambiental y de Recursos Naturales. Gobierno de México, México. Disponible en: <https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/informe18/tema/cap7.html>
- Serrano, A. A., García, L. S. y León, I. R. (s.f.). Métodos de Investigación de Enfoque Experimental. Métodos de investigación en Educación Especial, Documento académico, Universidad Nacional de Ecuador, Ecuador. Disponible en: <https://www.postgradoune.edu.pe/pdf/documentos-academicos/ciencias-de-la-educacion/10.pdf>

- Solis, B. A. (2020). Piña: la novedosa fuente de fibras textiles. Universidad de Costa Rica: Noticias. Disponible en: <https://www.ucr.ac.cr/noticias/2020/03/26/pina-la-novedosa-fuente-de-fibras-textiles.html>
- Solis, P. L. y Zambrano, J. M. (2021). Diseño de proceso de biorrefinería para la producción de té de kombucha y cartón reforzado con nanocelulosa bacterial. (Tesis para optar por el título de Ingeniería Química) Universidad de Guayaquil, Ecuador. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/57471/1/BINGQ-IQ-21P56.pdf>
- Suarez, E. U. (2006). Fermentación natural de la lactosa. Disponible en: <https://www.parqueciencias.com/sites/default/comun/galerias/galeriaDescargas/educacion-formacion/CienciaAula/FermentacionLactosa.pdf>
- Taipe, K. Y. (2018). Influencia de factores ambientales de crecimiento microbiano en la degradación de polietileno de baja densidad por la bacteria pseudomona aeruginosa en Huancayo. (Tesis para optar por el Título Profesional de Ingeniería Ambiental). Universidad Continental, Perú. Disponible en: https://repositorio.continental.edu.pe/bitstream/20.500.12394/4507/4/IV_FI_N_107_TE_Gutierrez_Taipe_2018.pdf
- Tejeda-Mansir, A., Lucero-Acuña, A., Rodríguez-Figueroa, J.C. y Noriega-Rodríguez, J.A. (2017). Avances en el estudio de la bioactividad multifuncional del kéfir. *Interciencia*, 42(6), 347-354. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/339/33951621003.pdf>
- Tejedor, A. S. (s.f.). Alkoholes de interés industrial. Química Orgánica Industrial. Disponible en: <https://www.eii.uva.es/organica/qoi/tema-06.php>
- Tellez-Mora, P.; Peraza-Luna, F. A.; Feria-Velasco, A. y Andrade-Gonzalez, I. (2012). Optimización del proceso de fermentación para la producción de tequila, utilizando la metodología de superficie de respuesta (msr). *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 11(1). Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmiq/v11n1/v11n1a14.pdf>
- Tellez, S. G. y Vázquez, D. O. (2018). Bebidas fermentadas nutraceúticas elaboradas a partir del hongo Kombucha y su uso potencial en el tratamiento de síndrome metabólico. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 3, 338-343. Disponible en: <http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume3/4/4/56.pdf>

- TicoBirra. (2018). TicoBirra. Disponible en: ¿Cómo se hace el té de Kombucha?: https://www.youtube.com/watch?v=1lrks_lfVoc
- Toribio, L. D. (2019). Efecto de tres concentraciones de Kombucha en las características morfoestructurales del micelio de *oídium farinosum* Cooke.
- Toribio, L. P. (2014). Disponible en: <https://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/UNC/409/T%20H2O%20M672%202014.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Torres Jomolca, D. (2005). Estudio de la etapa de fermentación alcohólica utilizando mezclas de diferentes sustratos. Universidad Central "Marta Abreu" de las Villas, Cuba. Disponible en: <https://dspace.uclv.edu.cu/bitstream/handle/123456789/1018/Tesis%20Duniesky%20Torres%20Jomolca.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Torres, R., Montes, E., Pérez, O. y Andrade, R. (2013). Relación del Color y del Estado de Madurez con las Propiedades Fisicoquímicas de Frutas Tropicales. Información Tecnológica 24(3), 51-56. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642013000300007
- Universidad de Costa Rica. (s.f.). Análisis Censorial. Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Disponible en: <http://www.cita.ucr.ac.cr/analisis-sensorial>
- Universidad Pedagógica Nacional. (2021). Manejo Integral de residuos peligrosos. Documento oficial. Colombia. Disponible en: http://mpp.pedagogica.edu.co/download.php?file=manual_Integral_de_residuos_peligrosos.pdf
- Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla. (2014). Análisis sensorial. Gastronomía, 121. México. Disponible en: https://investigacion.upaep.mx/micrositios/assets/analisis-sensorial_final.pdf
- United States Department of Agriculture. (2012). Sanidad en la alimentación. Facilitado por Sandra May, M.S., L.D.N., R.D., School of Nutrition and Food Sciences. Disponible en: https://www.lsuagcenter.com/~media/system/a/d/4/5/ad455e1095005a65c1627ccaa20981c8/pub3313-span_dg23%200918%20for%20print%20rev%208%202%2018pdf.pdf

- Uribe, L. A. (2007). *Caracterización fisiológica de levaduras aisladas de la filósfera de mora*. (Tesis de Microbiología Industrial) Pontificia Universidad Javeriana, Colombia. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8298/tesis276.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Valarezo, A. P. y Vizhñay, J. M. (2021). El Pseudo Fruto del Marañón (*Anacardium Occidentale*) para la eaboración de una kombucha. (Tesis de Licenciatura en Gastronomía). Universidad de Guayaquil, Ecuador. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/54166/1/BINGQ-GS-21P18.pdf>
- Vargas, T. F. (2014). (2014). Morfología bacteriana. *Revista de Actualización Clínica*, 49(2), 2594-2598.
- Velásquez, M. J. (2017). Estudio Microbiológico de los Alimentos Preparados en el Servicio de Alimentación del Batallón de la Policía Militar N° 503 –Chorrillos– 2017. (Tesis de Licenciatura en Nutrición). Universidad César Vallejo, Perú. Disponible en: <https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/7787/TESES%20-%202017-%20Manuel%20Velasquez%20Chumacero%20corregido.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Vera Enríquez, H. C. (2008). Evaluación sensorial. (Tesis por el grado de Ingeniería de Alimentos) Instituto Politécnico Nacional, México. Disponible en: <https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/14592/HAYDEE%20VERA%20INFORME%20FINAL.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Vera, N. A. (2015). Entrenamiento de un Panel de Evaluación Sensorial, para el Departamento de Nutrición de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile. (Memoria Ingeniería en Alimentos). Universidad de Chile, Chile. Disponible en: <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/137798/Entrenamiento-de-un-panel-de-evaluacion-sensorial-para-el-Departamento-de-Nutricion-de-la-Facultad-de-Medicina-de-la-Universidad-de-Chile.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Vicente, G. F. (2020). El problema de la gestión de los residuos sólidos en Costa Rica. 360 Soluciones verdes. Disponible en: <https://www.360-sv.com/blog/residuos>
- Vílchez, A. P. (2021). La Fábrica Nacional de Licores (FANAL): Un aliado del Estado costarricense. DELFINO. Disponible en: <https://delfino.cr/2021/07/la-fabrica-nacional-de-licores-fanal-un-aliado-del-estado-costarricense>

- Vital López, P. y Larralde Corona, C. P. Respuestas metabólicas al estrés de levaduras de importancia industrial. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*, 67, 86-91. Obtenido de <https://investigacion.uaa.mx/RevistalyC/archivo/revista67/Articulo%2012.pdf>
- Williamson, K. (2018). Como hacer kéfir de agua. yosoyfermentista.com. Disponible en: <https://yosoyfermentista.com/como-hacer-kéfir-de-agua/>
- Zambrano, P. (2017). Piña, características de la planta, cultivo. Propiedades de la piña, beneficios. *Animales y biología*. Disponible en: <https://naturaleza.paradais-sphynx.com/plantas/tipos-de-frutas/pina-propiedades-ananas-comosus.htm>
- Zazo, A. B. y Pedrón Giner, C. (2016). Conceptos básicos en alimentación. Hospital Universitario La Moraleja, España. Disponible en: <https://www.seghnp.org/sites/default/files/2017-06/conceptos-alimentacion.pdf>

VII. ANEXO

Anexo 1 Fichas Técnicas de piñas

Figura 19

Ficha Técnica de piña orgánica

1. PRODUCTO:

Piña orgánica fresca (*Ananas comosus*) en condición "crownless" o sin corona.

2. ESPECIFICACIONES DEL PRODUCTO:

CARACTERÍSTICA	ESPECIFICACIÓN
Variedad	Piña Orgánica Extra Sweet
Textura	Firme y jugosa
Aroma	Característico de la piña fresca
Sabor	Característico de la piña fresca
Color externo	De 2 a 4
Color interno	De 2 a 4
Sólidos Solubles (*Brix)	Mínimo 12
Tamaño	De 4 a 9
Defectos/Enfermedades	Libre de defectos, plagas y enfermedades tales como: cochinilla, tecla, quema de sol, entre otros.

3. CONDICIONES DE MANEJO:

- La fruta debe descoronarse manualmente girando la corona hasta provocar su desprendimiento.
- No debe tener más de 48 horas de cosechada.
- Debe estar libre de golpe o daño mecánico provocado por el mal manejo post-cosecha.

4. CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO:

La fruta se almacena en un lugar limpio, fresco y protegido de la luz solar.

5. CONDICIONES DE TRANSPORTE:

- Bines plásticos.
- El medio de transporte debe estar libre de suciedad, insectos, plagas o cualquier tipo de animal.
- Contar con buena circulación de aire.
- Evitar en lo posible la acción directa del sol.

6. REQUISITOS:

- Certificado Global GAP.
- Certificado de Producto Orgánico.

7. REGULACIONES DE PESTICIDAS/PLAGUICIDAS Y OTRAS SUSTANCIAS:

- Ver apartado 4.3 Requisitos de información para una especificación en el P-AC-011 Control y Elaboración de Especificaciones.

Figura 20*Ficha técnica de piña convencional***1. PRODUCTO:**

Piña fresca (*Ananas comosus*) en condición "crownless" o sin corona.

2. ESPECIFICACIONES DEL PRODUCTO:

CARACTERÍSTICA	ESPECIFICACIÓN
Variedad	Piña Convencional Extra Sweet
Textura	Firme y jugosa
Aroma	Característico de la piña fresca
Sabor	Característico de la piña fresca
Color externo	De 1 a 4
Color interno	De 1 a 4
Sólidos Solubles (*Brix)	Mínimo 12
Tamaño	De 4 a 9
Defectos/Enfermedades	Libre de defectos, plagas y enfermedades tales como: cochinilla, tecla, quema de sol, entre otros.

3. CONDICIONES DE MANEJO:

- La fruta debe descoronarse manualmente girando la corona.
- No debe tener más de 48 horas de cosechada.
- Debe estar libre de golpe o daño mecánico provocado por el mal manejo post-cosecha.

4. CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO:

La fruta se almacena en un lugar limpio, fresco y protegido de la luz solar.

5. CONDICIONES DE TRANSPORTE:

- Bines plásticos.
- El medio de transporte debe estar libre de suciedad, insectos, plagas o cualquier tipo de animal.
- Debe contar con buena circulación de aire.
- Evitar en lo posible la acción directa del sol.

6. REQUISITOS:

- Certificado Global GAP.

7. REGULACIONES DE PESTICIDAS/PLAGUICIDAS Y OTRAS SUSTANCIAS:

- Ver apartado 4.3 Requisitos de información para una especificación en el P-AC-011 Control y Elaboración de Especificaciones.

VIII. APÉNDICE

Apéndice 1 Fotografías tomadas durante los procesos de fermentación de la bebidas kéfir y kombucha

Figura 217

Proceso de fermentación de kombucha



Fuente: elaboración

propia.

Figura 22

Pesado de materia prima



Fuente: elaboración

propia.

Figura 23

Proceso de fermentación de Kéfir



Fuente: elaboración propia.

Figura 184

SCOBY de Kombucha



Fuente: elaboración propia.

Apéndice 2 Formato para panel sensorial

Figura 195

Formato para prueba hedónica de aceptación de 5 puntos, utilizada para evaluar atributos sensoriales para bebida fermentada con kéfir y cáscara de piña adicionada

Nombre:	Fecha:
Numero de prueba:	
Por favor enjuague su boca con agua antes de empezar.	
Frente a usted se presenta una muestra de bebida fermentada con kombucha sabor a piña. Por favor observe, huela y pruebe. Indiqué el grado en que le gusta o disgusta cada atributo de la muestra dada, de acuerdo al puntaje que usted considere adecuado de acuerdo a la categoría correspondiente que evalúa.	
Puntaje	Categoría
1	Me disgusta extremadamente
2	Me disgusta moderadamente
3	No me gusta ni me disgusta
4	Me gusta moderadamente
5	Me gusta extremadamente

Código	Calificación para cada atributo			
	Olor	Color	Sabor	Textura

Fuente: elaboración propia.

Figura 206

Formato para prueba hedónica de aceptación de 5 puntos, utilizada para evaluar atributos sensoriales para bebida fermentada con kombucha y piña adicionada

Nombre:	Fecha:
Numero de prueba:	
Por favor enjuague su boca con agua antes de empezar.	
Frente a usted se presenta una muestra de bebida fermentada con kéfir sabor a piña. Por favor observe, huela y pruebe. Indiqué el grado en que le gusta o disgusta cada atributo de la muestra dada, de acuerdo al puntaje que usted considere adecuado de acuerdo a la categoría correspondiente que evalúa.	
Puntaje	Categoría
1	Me disgusta extremadamente
2	Me disgusta moderadamente
3	No me gusta ni me disgusta
4	Me gusta moderadamente
5	Me gusta extremadamente

Código	Calificación para cada atributo			
	Olor	Color	Sabor	Textura

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 3 variables de pH y °Brix

Tabla 11

Resultados de pH y grados Brix en la primera fermentación de kéfir

	Horas	pH	Grados Brix
E1F1	0	6,1	7,6
E1F1	24	5,1	7
E1F1	48	4,7	7
E1F1	72	4,6	7
E2F1	0	6,2	5
E2F1	24	5,1	4,9
E2F1	48	4,7	4,6
E2F1	72	4,4	4,3
E3F1	0	4,4	4
E3F1	24	3,2	3
E3F1	48	3,2	3
E3F1	72	3	3

Fuente: elaboración propia.

Tabla 12

Resultados de pH y grados Brix en la segunda fermentación de kéfir

	Horas	pH	Grados Brix
E1F2	0	4,4	7
E1F2	4	4,4	7
E1F2	8	4,2	7
E1F2	12	4,1	7,2
E2F2	0	4,1	5
E2F2	4	4	5
E2F2	8	3,9	5
E2F2	12	3,9	5
T3F2	0	3	2,8
T3F2	4	2,9	2,3

T3F2	8	2,9	1,7
T3F2	12	2,9	1,7

Fuente: elaboración propia.

Tabla 13

Resultados de pH y grados Brix en la primera fermentación de kombucha

	Hora	pH	Grados Brix
E1F1	0	4,5	4,1
E1F1	24	4	4
E1F1	48	3,9	4
E1F1	72	4	4
E1F1	96	4	4
E1F1	120	4	4
E1F1	124	4	3,9
E1F1	148	3,9	3,9
E2F1	0	4	4,7
E2F1	24	4	4,6
E2F1	48	4	4,5
E2F1	72	4	4,5
E2F1	96	4	4,5
E2F1	120	3,9	4,4
E2F1	124	3,9	4,4
E2F1	148	3,8	4,4
E3F1	0	6	4
E3F1	24	4,9	4
E3F1	48	4,3	3,9
E3F1	72	4	3,8
E3F1	96	3,9	3,8
E3F1	120	3,9	3,8
E3F1	124	3,8	3,8
E3F1	148	3,8	3,8
E4F1	0	6,1	5
E4F1	24	4,8	4,3

E4F1	48	4,1	4,1
E4F1	72	3,7	3,9
E4F1	96	3,8	3,9
E4F1	120	3,7	3,9
E4F1	124	3,7	3,9
E4F1	148	3,7	3,9

Fuente: elaboración propia.

Tabla 14

Resultados de pH y grados Brix en la segunda fermentación de kombucha

	Hora	pH	Grados Brix
E1F2	0	4	4,2
E1F2	4	4	4,8
E1F2	8	3,9	4,8
E1F2	12	3,8	4,8
E2F2	0	4	4,7
E2F2	4	4	5
E2F2	8	3,9	5
E2F2	12	3,8	5
E3F2	0	3,8	4
E3F2	4	3,8	3,8
E3F2	8	3,7	3,8
E3F2	12	3,7	4
E4F4	0	3,7	4
E4F4	4	3,6	4
E4F4	8	3,6	4
E4F4	12	3,6	4

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 4 Determinación de la reducción de cloro residual

Figura 27

Instrucciones para cloro libre residual del agua



Análisis para determinar la presencia de cloro libre o total, 0 a 3.4 mg/l de Cl_2
Para usar con los equipos de análisis 223101 (CN-66), 223102 (CN-66F) y 223103 (CN-66T) DOC326 98 00008

Se pueden conseguir más copias en www.hach.com

NOTA: El incremento más pequeño es 0,1 mg/L. Véase el paso 7 a continuación para conocer las instrucciones.

Preparación para el análisis

- Arme el comparador de colores ubicando el disco cromático en el pasador central con la rotación hacia afuera.
- Enjuague los frascos con la muestra de agua antes de realizar el análisis. Enjuague con agua desionizada tras el análisis.
- El polvo sin disolver no afecta la precisión del análisis.
- La monodramina hace que los valores de cloro libre aumenten a sus valores máximos. Lea los resultados inmediatamente después de haber agregado el reactivo para el cloro libre. A los 3 mg/l de monodramina, el resultado aumentará 1 mg/l después de 1 minuto.
- Lea el resultado de mg/L de cloro en el segmento del disco coincidente o como el valor medio entre dos segmentos parecidos en color.
- Si el disco se humedece, separe con cuidado las dos mitades de la funda plástica y seque el inserto plástico de color y las dos mitades con un paño suave. Una las partes cuando estén completamente secas.

PRECAUCIÓN: Respete las normas para el trabajo con sustancias químicas y maneje los reactivos con cuidado. Repase las hojas informativas sobre la seguridad de los materiales antes de manipular sustancias químicas.

Procedimiento de análisis para determinar la presencia de cloro libre o total

Repuestos

Descripción	Unidad	Número de catálogo
Caja del comparador de colores	cada uno	173200
Disco cromático, cloro DPD de -3.4, 0- mg/L	cada uno	990200
Tubo plástico de visualización de color, con tapón.	4 x paquete	4660004
Sobres de reactivo de DPD en polvo para determinar la presencia de cloro libre	100/paq.	1407799
Sobres de reactivo de DPD en polvo para determinar la presencia de cloro total	100/paq.	1407599

Elementos opcionales

Descripción	Unidad	Número de catálogo
Tapas para los tubos de plástico para la observación del color 4660004	4 x paquete	4660014
Tubo de vidrio para la observación del color	6 x paquete	173006
Tapones para tubos de vidrio para la observación del color 173006	6 x paquete	173106
Agua desionizada	500 mL	27249



1. Ponga muestra hasta la primera línea (5 ml) de un tubo.



2. Introduzca el tubo en el orificio izquierdo del comparador.



3. Ponga muestra hasta la primera línea (5 ml) de otro tubo.



4. Si necesita determinar la presencia de cloro libre, agregue un sobre de reactivo de DPD para cloro libre en el segundo tubo. Mezcle, haciendo girar la solución.

Note: Si necesita determinar la presencia de cloro total, agregue un sobre de reactivo de DPD para cloro total en el segundo tubo. Mezcle, haciendo girar la solución.



5. Introduzca el segundo tubo en el orificio derecho del comparador.



6. Sostenga el comparador de manera que quede una fuente de luz natural o fluorescente directamente detrás de los tubos. Rote el disco cromático hasta que coincidan los colores en las ventanas del frente. La mejor coincidencia ocurrirá entre dos segmentos de color.



7. Lea el resultado en mg/L de la ventana de la escala. Si se produce la mejor coincidencia entre dos segmentos de color, determine el valor medio entre los dos números impresos.

© Hach Company, 2006, 2010. Reservados todos los derechos. Impreso en EE.UU.
Para asistencia técnica o información sobre pedidos: visite www.hach.com, llame al 800-227-4224 o envíe correo electrónico a techhelp@hach.com

11/2010 Edición 2

Figura 28

Análisis de agua sin hervir



Figura 29

Análisis de agua hervida (70°C por 20 segundos)



CARTA DE AUTORIZACIÓN PARA USO Y MANEJO DE LOS TRABAJOS
FINALES DE
GRADUACIÓN

UNIVERSIDAD TÉCNICA NACIONAL

Atenas, sábado 21 de mayo 2022

Señores

Vicerrectoría de Investigación

Sistema Integrado de Bibliotecas y Recursos Digitales

Estimados señores

Nombre de sustentantes	Número de identificación
Ana María Araya Salas	2-0739-0929
Yerica Umaña Artavia	7-0230-0922

Nosotros en calidad de autores del trabajo de graduación titulado: Aplicación de comunidades simbióticas en procesos fermentativos en una bebida que permita generar aportes nutricionales, aprovechando subproductos, a base de los residuos de piña (*ANANUS COMUSUS*)

El cual se presenta bajo la modalidad de:

☐ Seminario de Graduación

☐ Proyecto de Graduación

☒ Tesis de Graduación

Presentado en la fecha 21/05/2022, autorizamos a la Universidad Técnica Nacional, sede Atenas, para que nuestro trabajo pueda ser manejado de la siguiente manera:

AUTORIZAMOS		
	S í	No
Conservación de ejemplares para préstamo y consulta física en biblioteca	x	
Inclusión en el catálogo digital del SIBIREDI (Cita catalográfica)	X	
Comunicación y divulgación a través del Repositorio Institucional	X	
Divulgación del resumen en el repositorio UTN con una cantidad de 200 a 500 palabras (Describe en forma breve el contenido del documento)	X	
Consulta electrónica con texto protegido	X	
Descarga electrónica del documento en texto completo protegido	X	
Inclusión en bases de datos y sitios web que se encuentren en convenio con la Universidad Técnica Nacional contando con las mismas condiciones y limitaciones aquí establecidas	X	

Por otra parte, declaramos que el trabajo que aquí presentamos es de plena autoría, es un esfuerzo realizado de forma conjunta, académica e intelectual con plenos elementos de originalidad y creatividad. Garantizamos que no contiene citas, ni transcripciones de forma indebida que puedan devenir en plagio, pues se ha utilizado la normativa vigente de la American Psychological Association (APA). Las citas y transcripciones utilizadas se realizan en el marco de respeto a las obras de terceros. La responsabilidad directa en el diseño y presentación son de competencia exclusiva, por tanto, se exime de toda responsabilidad a la Universidad Técnica Nacional.

Conscientes de que las autorizaciones no reprimen nuestros derechos patrimoniales como autores del trabajo. Confiamos en que la Universidad Técnica Nacional respete y haga respetar nuestros derechos de propiedad intelectual.

Nombre del estudiante	Cédula	Firma
Ana María Araya Salas	2-0739-0929	Ana María Araya S.
Yerica Umaña Artavia	7-0230-0922	

Día: sábado 21 de mayo 2022

San José, 06 de mayo del 2022

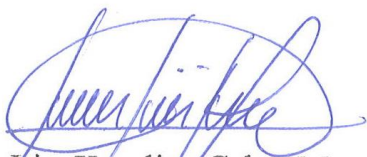
Área de Tecnología
Ingeniería en Tecnología de Alimentos
Universidad Técnica Nacional
Sede Atenas
Presente

Por este medio expreso que Ana María Araya Salas y Yericá Umaña Artavia me entregaron para efectos de la revisión filológica el Trabajo Final de Graduación denominado APLICACIÓN DE COMUNIDADES SIMBIÓTICAS EN PROCESOS FERMENTATIVOS EN UNA BEBIDA QUE PERMITA GENERAR APORTES NUTRICIONALES, APROVECHANDO SUBPRODUCTOS, A BASE DE LOS RESIDUOS DE PIÑA (*ANANUS COMUSUS*), el cual han elaborado para optar por el título de Licenciatura en Ingeniería en Tecnología de Alimentos.

He revisado los aspectos de estructura gramatical, acentuación, ortografía, puntuación y los vicios de dicción que se trasladan al escrito, además del ordenamiento correcto de ideas para una óptima coherencia y cohesión, por consiguiente, se realizaron todas las correcciones pertinentes.

Se extiende esta carta para los fines que Ana María Araya Salas y Yericá Umaña Artavia consideren necesarios.

Atentamente,



Lic. Karolina Calvo Morales
Filóloga Española
Colegiada # 56247, Colypro
Carné #125, Asociación Costarricense de Filólogos

C.c.: Archivo