

Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Departamento de Agroindustria Alimentaria
Ingeniera en Agroindustria Alimentaria



Proyecto Especial de Graduación
Evaluación sensorial y determinación de características fisicoquímicas
de una bebida funcional a base de lactosuero y β -glucanos

Estudiante

Andrea Jimena Valdés Alvarado

Asesores

Adriana Hernández, D.Sc.

Sandra Espinoza, M.Sc.

Honduras, agosto 2022

Autoridades

TANYA MÜLLER GARCÍA

Rectora

ANA M. MAIER ACOSTA

Vicepresidenta y Decana Académica

ADELA M. ACOSTA MARCHETTI

Directora Departamento de Agroindustria Alimentaria

HUGO ZAVALA MEMBREÑO

Secretario General

Contenido

Índice de Cuadros	4
Índice de Figuras	5
Índice de Anexos	6
Resumen	7
Abstract	8
Introducción.....	9
Materiales y Métodos	13
Localización.....	13
Materia Prima	13
Tipo de Estudio	13
Fases de la Investigación.....	14
Fase I. Pruebas Preliminares y Determinación de la Formulación de la Bebida	14
Fase II: Análisis Microbiológicos de la Bebida	17
Fase III: Análisis Sensorial	19
Fase IV: Análisis Físicoquímico y Calidad Nutricional	21
Resultados y Discusión.....	31
Fase I. Pruebas Preliminares y Determinación de la Formulación de la Bebida	31
Fase II: Análisis Microbiológicos de la Bebida	32
Fase III: Análisis Sensorial de Aceptación y Preferencia	33
Fase IV: Análisis Físicoquímico y Calidad Nutricional	39
Conclusiones.....	47
Recomendaciones.....	48
Referencias	49
Anexos	58

Índice de Cuadros

Cuadro 1 Composición nutricional por 100 mL de los ingredientes utilizados para la elaboración de la bebida funcional.	14
Cuadro 2 Límites máximos permitidos de microorganismos para bebidas no carbonatadas.	18
Cuadro 3 Formulaciones de la bebida funcional.	31
Cuadro 4 Composición nutricional teórica de los tratamientos de la bebida funcional (100 mL).	32
Cuadro 5 Resultados de los análisis microbiológicos en UFC/mL realizados a la bebida funcional. ...	33
Cuadro 6 Resultados del análisis sensorial para los atributos color, olor, apariencia y sabor evaluados en cada tratamiento.	35
Cuadro 7 Resultados del análisis sensorial para los atributos de viscosidad, acidez, dulzura y aceptación general evaluados en cada tratamiento.	36
Cuadro 8 Resultados del análisis de correlación de Pearson y probabilidad.	38
Cuadro 9 Resultados de la prueba de preferencia usando la Prueba Basker.	39
Cuadro 10 Resultados de color (L a* b*) de la bebida funcional.	40
Cuadro 11 Resultados de pH y °Brix de la bebida funcional.	40
Cuadro 12 Resultados de acidez titulable de las muestras con mayor aceptación.	42
Cuadro 13 Relación de viscosidad y rpm de la bebida funcional.	42
Cuadro 14 Calidad nutricional del control y tratamiento más aceptado por porción de 100 mL.	44
Cuadro 15 Comparación de la calidad nutricional e ingredientes de la bebida funcional de este estudio y dos bebidas parecidas en el mercado por 100 mL.	45
Cuadro 16 Costos variables de formulación en dólares estadounidenses (USD).	46

Índice de Figuras

Figura 1 Proceso para elaboración de la bebida funcional.....	17
Figura 2 Comportamiento de la muestra según su viscosidad.....	43

Índice de Anexos

Anexo A Boleta de evaluación sensorial para bebida de mora y lactosuero	58
Anexo B Comparación de composición nutricional en 100 ml.	59

Resumen

Se ha estudiado el uso de lactosuero y β -glucanos como ingredientes de alimentos funcionales porque ofrecen la posibilidad de prevenir enfermedades no transmisibles. El objetivo del estudio fue elaborar una bebida funcional a base de lactosuero, β -glucanos y concentrado de mora y determinar sus cualidades sensoriales, fisicoquímicas y nutricionales. Este estudio se desarrolló en cuatro fases: I) Pruebas preliminares y determinación de formulación con 75, 85 y 90% lactosuero y 25, 15 y 10% concentrado de mora, con cantidad fija de 0.243 g β -glucanos en 100 mL. II) Análisis microbiológicos para asegurar la inocuidad de la bebida. III) Análisis sensorial de aceptación y preferencia. Se utilizó un diseño de Bloques Completos al Azar (BCA) con un análisis de varianza (ANDEVA) y una separación de medias Duncan mediante el programa SAS 9.6 y prueba Basker. IV) Caracterización fisicoquímica (sólidos solubles, pH, viscosidad, color, acidez titulable) y nutricional de la bebida con mayor aceptación y preferencia. En los análisis fisicoquímicos se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con ANDEVA, separación de medias DUNCAN y prueba t solo para acidez titulable. La formulación con 75% lactosuero, 25% concentrado de mora y 0.243 g β -glucanos obtuvo la mayor aceptación y preferencia, siendo el sabor y dulzura los atributos que más afectan su aceptación. Esta presentó un color rojo amarillento con baja luminosidad, pH de 3.59, 21.87 °Brix, acidez de 0.91% expresado como ácido láctico y una viscosidad de 30.6 mPa*s. Nutricionalmente, la bebida sería considerada fortificada en fibra y libre de colesterol, sodio y grasa saturada según lo establecido por el RTCA para etiquetado nutricional. Se recomienda medir su efecto en una población seleccionada para determinar los beneficios.

Palabras clave: aceptación, alimentos funcionales, calidad nutricional, concentrado de mora, fibra.

Abstract

The use of whey and β -glucans as functional food ingredients has been studied because they can prevent non-communicable diseases. The study's objective was to elaborate a functional beverage based on whey, β -glucans, and blackberry concentrate, and to determine its sensory, physicochemical, and nutritional qualities. This study was developed in four phases: I) Preliminary tests and formulation determination with 75, 85, and 90% whey and 25, 15, and 10% blackberry concentrate, with a fixed amount of 0.243 g β -glucans in 100 mL. II) Microbiological analysis to ensure the safety of the beverage. III) Sensory analysis of acceptance and preference. A Randomized Complete Block design (BCA) was used with an analysis of variance (ANDEVA) with Duncan mean separation using the SAS 9.6 program and Basker test. IV) Physicochemical (soluble solids, pH, viscosity, color, titratable acidity) and nutritional characterization of the beverage with the highest acceptance and preference. A Completely Randomized Design (CRD) with ANDEVA, DUNCAN separation of means, and t-Student only for titratable acidity was used for the physicochemical analyses. The formulation with 75% whey, 25% blackberry concentrate, and 0.243 g β -glucans, obtained the highest acceptance and was preferred, with flavor and sweetness being the attributes that most affected acceptance. It presented a yellowish red color with low brightness, pH of 3.59, 21.87°Brix, the acidity of 0.91% expressed as lactic acid, and a viscosity of 30.6 mPa*s. Nutritionally, the beverage would be considered fortified in fiber and free of cholesterol, sodium, and saturated fat according the RTCA for nutritional label. Measuring its effect in a selected population is recommended to determine the benefits.

Key words: acceptance, blackberry concentrate, fiber, functional foods, nutritional quality.

Introducción

Estudios muestran que la obesidad está asociada a otras morbilidades como enfermedad coronaria, hipertensión, resistencia a la insulina, Esteatosis Hepática No Alcohólica (EHNA), síndrome metabólico, trastornos del aparato locomotor, entre otros (Bray et al. 2017; Przybyszewski et al. 2021). La obesidad es considerada la principal causa de EHNA; hasta ahora, estudios han demostrado que 76% de las personas con esta enfermedad no consumían alcohol, pero eran obesas (Sahuquillo Martínez et al. 2016).

En las últimas décadas, la EHNA ha sido la causa más importante de enfermedad hepática en el mundo con una prevalencia del 25% en la población (Videla et al. 2011; Younossi et al. 2017; Powell et al. 2021). La EHNA es un síndrome clínico patológicamente distinguido por acumulación de lípidos, cambios macro vesiculares, mayor a 5% del peso total del hígado (Meneses Moreno y Negrin Rangel 2017; Aguilera Méndez 2018). La gravedad e incidencia de EHNA están relacionadas con el índice de masa corporal (IMC), circunferencia de cintura, hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia, colesterol, obesidad, diabetes tipo 2, resistencia a la insulina, entre otros (Benhaim Varela et al. 2016). La actividad física y una dieta saludable inducen a controlar la prevalencia de EHNA, en especial el consumo de fibras dietéticas, β -glucanos, y micronutrientes, antocianinas y vitaminas (Berná y Romero-Gomez 2020). El desarrollo de productos funcionales con β -glucanos, constituye una opción favorable para combatir la prevalencia de enfermedades como EHNA.

La industria alimentaria cumple un rol fundamental en la alimentación de las personas. En este sentido, es crucial que la misma se enfoque en la creación e innovación de productos que favorezcan la prevención de enfermedades (Choudhary Raghuveer 2009). Los alimentos funcionales son conocidos por su efecto benéfico y nutricional, además de ofrecer la posibilidad de mejorar la salud o prevenir enfermedades (Silveira Rodríguez et al. 2003). Diversas investigaciones han puesto en relieve la importancia de diferentes ingredientes naturales, tales como el lactosuero y los β -

glucanos, que resultan extraordinariamente útiles en la prevención de enfermedades (Alvírez Morales et al. 2002).

El lactosuero se obtiene por la separación del coágulo de leche durante la elaboración de queso, es normalmente desechado provocando pérdidas económicas y contaminación al medio ambiente (Posada et al. 2021). En la industria quesera, del total de leche utilizada, cerca del 85 - 95% es eliminada en forma de lactosuero (Fernández Rodríguez et al. 2016). De hecho, el 55% del total de ingredientes de la leche es retenido en el lactosuero, tales como la lactosa, proteínas solubles, lípidos y sales minerales (Parra Huertas 2009). Las sustancias presentes en el lactosuero previenen enfermedades cardiovasculares, padecimientos metabólicos, disminuyen niveles de triglicéridos y mejoran la tolerancia en la ingesta de glucosa (Chacón Gurrola et al. 2017). El uso de lactosuero brinda una oportunidad para mitigar la contaminación ambiental, aprovechar los beneficios nutricionales y funcionales en diferentes productos; por ende, resulta una alternativa viable de desarrollo alimentario (Parra Huertas 2009). El lactosuero se puede utilizar como materia prima adicionando otros compuestos como los β -glucanos, polifenoles, vitaminas y minerales, entre otros para fortalecer el beneficio relacionado a la prevención de enfermedades no transmisibles.

Los β -glucanos son polímeros de glucosa que actúan como fibra intestinal y naturalmente se encuentran en fuentes como bacterias, cereales, levaduras y hongos (Pizarro et al. 2014). Los efectos benéficos de estos dependen del peso molecular y la fuente de obtención, asimismo, este afectará las propiedades físicas, solubilidad y viscosidad al estar presente en un alimento (Wang et al. 2016). El consumo de β -glucanos está asociado con características hipolipemiantes, hipoglucemiantes, saciantes, prebióticos y diversos beneficios a la salud; en consecuencia, actúan en la reducción del índice glucémico y colesterol sérico (Kaur et al. 2020). Se ha demostrado que los β -glucanos que provienen del hongo *Ganoderma lucidum*, han mejorado la sensibilidad a la insulina, las complicaciones metabólicas y promueven el equilibrio de los niveles de colesterol (Jung et al. 2018; Sima et al. 2018). Sima et al. (2018) mencionan que estos compuestos bioactivos reducen los niveles

de Colesterol de Baja Densidad (LDL, por sus siglas en inglés), conocido como colesterol malo. De hecho, el colesterol contribuye al sobrepeso y obesidad en la población.

De manera similar, las moras poseen antocianinas que tienen un efecto benéfico contribuyendo a la prevención de diabetes, cáncer, inflamación, enfermedades cardiovasculares y obesidad (Khoo et al. 2017). Mehmood et al. (2021), mencionaron que estos nutrientes provenientes de los polifenoles mejoran el metabolismo de la glucosa y lípidos por medio del aumento de las actividades antioxidantes, antiinflamatorias y regulando el microbiota intestinal. Este pigmento soluble en agua se encuentra en plantas, pertenece a los compuestos flavonoides que son antioxidantes que mitigan el efecto de las moléculas inestables, radicales libres, causantes de una diversa cantidad de enfermedades (Wong 2022). De tal manera, compuestos bioactivos como los β -glucanos y las antocianinas proponen una solución para la prevención de algunas enfermedades por medio de alimentos que las contengan.

La organización Mundial de la Salud (2003), refiere que durante la adolescencia, los hábitos insalubres tienden a incidir en la manifestación de enfermedades por lo que se deben tomar acciones durante esta etapa para la prevención de su aparición. Indudablemente, los ajustes alimentarios durante este periodo son un determinante importante para la prevención de enfermedades relacionadas con la obesidad como la EHNA. El consumo regular de alimentos funcionales supone una alternativa efectiva para su prevención aprovechando coproductos de la industria quesera y bioactivos presentes en los alimentos. Por consiguiente, el consumo de una bebida con lactosuero y β -glucanos para los adolescentes contribuiría a la prevención de EHNA. Esta bebida se puede clasificar dentro de las tendencias para alimentos funcionales del Instituto de Tecnólogos de Alimentos (IFT por sus siglas en inglés) para el 2022 específicamente en “Saludable de forma sostenible” y “Condiciones y conexiones” (Sloan 2022). Además, al contribuir en la mitigación el impacto ambiental, trabaja particularmente de acuerdo con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) “Acción por el clima”

(ODS 13) y “Salud y Bienestar” (ODS 3). De esta manera, los objetivos específicos planteados para este estudio son:

Determinar la formulación y aceptación sensorial de una bebida funcional con lactosuero, β -glucanos y concentrado de mora.

Valorar las propiedades fisicoquímicas de la bebida y evaluar la calidad nutricional de la bebida con mayor aceptación según el análisis sensorial.

Materiales y Métodos

Localización

El estudio se llevó a cabo en la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano (EAP), localizada en el km 30, carretera hacia Danlí, departamento de Francisco Morazán, Honduras. El desarrollo de la bebida tuvo lugar en las instalaciones de la Planta de Innovación de Alimentos (PIA) y Laboratorio de la Planta de Lácteos, en donde también se realizaron las mediciones de pH y grados Brix. Los análisis microbiológicos de los tratamientos se realizaron en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos de Zamorano (LMAZ). El análisis sensorial se desarrolló en el Laboratorio de Análisis Sensorial de Zamorano. La determinación de las características fisicoquímicas y calidad nutricional se llevaron a cabo en el Laboratorio de Análisis de Alimentos de Zamorano (LAAZ). Se evaluó el contenido de sodio en el Laboratorio de Suelos de Zamorano (LSZ).

Materia Prima

Los ingredientes utilizados fueron el suero dulce de queso fresco obtenido de la Planta de Lácteos de Zamorano, β -glucanos obtenidos del hongo *Ganoderma lucidum* donados por la empresa Nutreo, Colombia y concentrado de mora obtenido de la Planta Hortofrutícola de Procesamiento Zamorano y donados por el Instituto de Tecnología para el Cuidado de la Salud (ITHC, por sus siglas en inglés), todos con las siguientes características.

Lactosuero dulce fresco, proveniente de queso crema con pH de 5 ± 0.5 y 7 ± 1 °Brix

Concentrado de mora con pH de 1.5 ± 0.5 y 40 ± 1 °Brix.

β -glucanos sellados, sin ninguna materia extraña.

Tipo de Estudio

El estudio consistió en un enfoque cuantitativo por medio de categorización. Adicionado a esto, el muestreo del estudio se realizó por conveniencia y el diseño experimental con alcance descriptivo y correlacional. El análisis estadístico de los datos se realizó de acuerdo con cada fase del estudio, que se menciona a continuación.

Fases de la Investigación

Fase I: Pruebas preliminares y determinación de formulación de la bebida.

Fase II: Análisis microbiológicos de la bebida.

Fase III: Análisis sensorial de aceptación y preferencia.

Fase VI: Caracterización fisicoquímica y nutricional de la bebida.

Fase I. Pruebas Preliminares y Determinación de la Formulación de la Bebida

Pruebas Preliminares

Para definir la formulación y el proceso de elaboración de los tratamientos se realizó una serie de pruebas preliminares. La metodología para la determinar las tres formulaciones consistió en prueba y error de diferentes cantidades de cada materia prima, hasta obtener formulaciones con un aporte nutricional teórico adecuado y características organolépticas agradables. Por lo que se consideró que de manera general una persona entre 18 y 29 años debería de consumir 2200 calorías provenientes de diferentes grupos de alimentos según el Instituto Nacional Sobre el Envejecimiento (2017). La calidad nutricional por 100 mL de cada ingrediente se consideró usando las tablas de composición de alimentos del INCAP (Cuadro 1), sin embargo, este cuadro no incluye información sobre β -glucanos. Luego, se evaluaron distintos flujos de procesos según la literatura hasta adaptar uno que contara con un ciclo adecuado a este estudio (Figura 1).

Cuadro 1

Composición nutricional por 100 mL de los ingredientes utilizados para la elaboración de la bebida funcional.

Ingrediente	Energía (Kcal)	Proteínas (g)	Carbohidratos (g)	Grasa (g)
Lactosuero dulce	27	0.85	5.14	0.36
Concentrado con azúcar	231	0.30	64.40	0.00

Nota. Tomado de INCAP (2018). Kcal: calorías. g: gramos.

Las pruebas preliminares desarrolladas se evaluaron en cuanto a sus atributos sensoriales con un grupo de estudiantes en la PIA. Estas pruebas se llevaron a cabo para determinar el jugo de fruta a utilizar y hasta qué punto el lactosuero era agradable sensorialmente. Inicialmente se realizaron

pruebas con jugo de naranja natural, pero al realizar el proceso de pasteurización el sabor residual de la bebida fue desagradable y la coloración no era atractiva. Por lo tanto, se decidió utilizar concentrado de mora. Se preparó la bebida de acuerdo con la sugerencia de preparación del procesador, 25% de concentrado en 75% de agua. Ya que este jugo es preparado regularmente en el comedor estudiantil de Zamorano, se utilizó como control y para los tratamientos se sustituyó el agua por lactosuero. Además, se evaluaron otras formulaciones reduciendo el contenido de concentrado de mora porque el grupo de estudiantes mencionó que la bebida estaba muy dulce y ácida cuando la bebida contenía 25% de concentrado. Estos porcentajes se modificaron a pesar de que Calderon et al. (2022), mencionan que las bebidas de lactosuero han sido aceptadas cuando contienen menos de un 70% de suero de leche dulce. También, se evaluó la calidad nutricional de cada tratamiento y el control según las tablas de composición de alimentos del INCAP (2018).

La cantidad de β -glucanos provenientes de hongos como *Ganoderma lucidum* es permitida hasta una dosis de 7.3 a 16.4 mg de β -glucanos por kg de peso corporal al día según la Administración de Medicamentos y Alimentos de Estados Unidos (U.S. Food & Drug Administration 2011). Según la investigación de Calderon et al. (2022), recomiendan el uso de 3.56 mg de β -glucanos por kilogramos de peso corporal. Este valor lo obtuvieron de estudios previos realizados en ratones en los cuales se observaron mejoras en EHNA, reducción de inflamación de tejidos del corazón, hígado, riñón, bazo y colon por lo que se convirtió en dosis para humanos (Wu et al. 2016; Jung et al. 2018). Por lo tanto, considerando la evaluación realizada por Martínez Ramos (2021), en estudiantes de Zamorano, el peso promedio de hombres y mujeres es de 68.15 kg. Así pues, se utilizó la Ecuación 1 para determinar la cantidad de β -glucanos por porción de 100 mL que debe contener la bebida para ofrecer un beneficio a la salud.

Dosis diaria para una persona de 68.14 kg.

$$\text{Dosis diaria (g)} = \frac{\text{gramos de } \beta - \text{glucanos}}{\text{kg de peso corporal}} \times \text{kg de peso corporal} \quad [1]$$

Sustitución de datos en Ecuación 1 para obtener la dosis diaria equivalente.

$$\text{Dosis diaria (g)} = \left(3.56 \frac{\text{mg}}{\text{kg}} \times \frac{1 \text{ g}}{1000 \text{ mg}} \right) \times 68.14 \text{ kg} = 0.243 \text{ g}$$

Formulación de la bebida

En este estudio, se realizaron tres tratamientos con la misma cantidad de β -glucanos, pero diferente porcentaje de lactosuero y concentrado de mora y un tratamiento control sin β -glucanos y con agua. El control es la recomendación de preparación brindada en la etiqueta del concentrado de mora.

Proceso para la Elaboración de la Bebida

Recepción y Dosificado de Lactosuero, β -glucanos y Concentrado de Mora.

Se recolectaron y midieron las cantidades necesarias de cada materia prima, dependiendo del tratamiento a realizar. Se verificó que los ingredientes cumplieran con los parámetros antes referidos.

Filtración.

El lactosuero se filtró con un colador para eliminar cualquier residuo de queso.

Mezclado y Homogenizado.

Se mezclaron todos los ingredientes hasta obtener un líquido con apariencia homogénea.

Pasteurización.

Se realizó una pasteurización por tandas, donde se utilizó la olla de cocción lenta marca InstantPot modelo Duo-Nova. La bebida homogénea se pasteurizó a una temperatura de 65 °C por 30 minutos, para evitar la desnaturalización de proteínas presentes y destruir los microorganismos patógenos que podrían estar presentes y se mantuvo en agitación constante (Muñoz Mendoza 2019).

Enfriamiento a 10 °C.

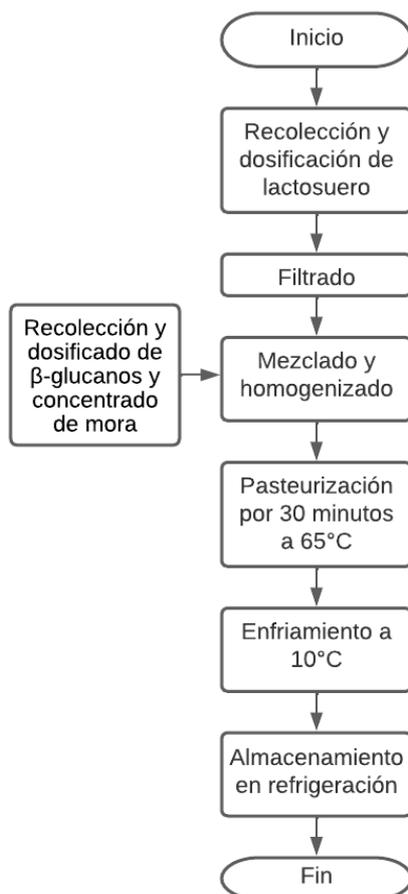
Para el enfriamiento de la bebida, se colocó el tratamiento en un recipiente metálico y se puso a baño maría en agua fría y hielo durante 8 a 10 minutos hasta alcanzar una temperatura menor o igual de 10 °C.

Almacenamiento.

El producto se almacenó en botellas plásticas de poli tereftalato de etileno en la refrigeradora.

Figura 1

Proceso para elaboración de la bebida funcional.



Nota. Adaptación de Muñoz Mendoza (2019) y Tonconi Limachi (2020).

Fase II: Análisis Microbiológicos de la Bebida

La calidad microbiológica de la bebida funcional (Cuadro 2) se rigió según los criterios microbiológicos de la Norma Sanitaria Peruana (2008), el grupo de “Bebidas jarabeadas y no jarabeadas no carbonatadas” y Comisión Internacional sobre Especificaciones Microbiológicas para los alimentos (ICMSF 2011) en la sección de bebidas no alcohólicas. A su vez, estos análisis cumplían

con los expuestos en el RTCA 67.04.50:17 (COMIECO 2009). Estas pruebas se realizaron a los tratamientos y control previo al análisis sensorial para asegurar la inocuidad de las bebidas.

Cuadro 2

Límites máximos permitidos de microorganismos para bebidas no carbonatadas.

Agente microbiano	m	M
Bacterias aerobias mesófilas	10 UFC/mL	10 ² UFC/mL
Coliformes	<2.2 NMP /mL	Ausencia
Mohos y levaduras	1 UFC/mL	10 UFC/mL

Nota. Tomado de Norma Sanitaria Peruana (2008) y ICMSF (2011). M: límite microbiológico que separa la calidad aceptable y rechazable.

m: valor máximo permitido. UFC: Unidades Formadoras de Colonias. mL: mililitros. NMP: número más probable.

Bacterias Mesófilas Aerobias

Para las pruebas de Bacterias Mesófilas Aerobias (BMA), 10 mL de cada muestra y se colocaron en una bolsa estéril a la que se le añadieron 90 mL de solución buffer de fosfato esterilizada y se homogenizó cada bolsa por 2 minutos en el Stomacher IUL Instrument. Las muestras homogenizadas correspondían a la dilución 10¹, de la cual, se preparó la dilución 10², con una pipeta se tomó 1 mL de la dilución inicial y se colocó en un tubo de ensayo que contenía 9 mL de buffer y con ayuda de un vortex (Thermo Fisher Scientific, MA, EUA) se homogenizó por 1 minuto. Con ayuda de una pipeta, se tomó 1 mL de la dilución y se inoculó por medio del método vaciado en placa. Luego, se agregaron 15 mL del medio de cultivo Agar Cuenta Estándar (ACE). Para homogenizar la muestra y el medio de cultivo, se realizaron movimientos circulares hacia ambas direcciones. Finalmente, se dejaron incubar a 25 °C por 2 días los platos. Se realizó el conteo de las colonias presentes y se recolectaron los datos para su posterior análisis.

Coliformes

Para la determinación de presencia o ausencia de coliformes, 10 mL de cada muestra se colocaron en una bolsa estéril a la que se le añadieron 90 mL de solución buffer de fosfato esterilizada y se homogenizó cada bolsa por 2 minutos en el Stomacher IUL Instrument. Las muestras homogenizadas correspondían a la dilución 10¹, de la cual, se preparó la dilución 10², con una pipeta se tomó 1 mL de la dilución inicial y se colocó en un tubo de ensayo que contenía 9 mL de buffer y con

ayuda de un vortex se homogenizó por 1 minuto. De manera similar, se utilizó 1 mL de la dilución 10^2 para realizar la dilución 10^3 . Con ayuda de una pipeta, se tomó 1 mL de la dilución correspondiente y se inoculó por medio del método número más probable. A los tubos de ensayo que se utilizaron se les había añadido 9 mL de Caldo Lauril Triptosa (CLT). Luego de añadir 1 mL de la dilución correspondiente se taparon y dejaron incubar a 25 °C por 24 horas y 48 horas. Luego, se observaron por 2 días seguidos los tubos para determinar si eran positivos o negativos y se tomó nota de los resultados obtenidos.

Mohos y Levaduras

Para las pruebas de mohos y levaduras, 10 mL de cada muestra se colocaron en una bolsa estéril a la que se le añadieron 90 mL de solución buffer de fosfato esterilizada y se homogenizó cada bolsa por 2 minutos en el Stomacher IUL Instrument. Con ayuda de una pipeta, se tomó 1 mL de la muestra en bolsa que correspondía a dilución de 10^1 y se inoculó por medio del método vaciado en placa. Luego, se agregaron 15 mL del medio de cultivo Agar Rosa de Bengala. Para homogenizar la muestra y el medio de cultivo, se realizaron movimientos circulares hacia ambas direcciones. Por último, se dejaron incubar a 25 °C por 5 días los platos petri. Se realizó el conteo de las colonias presentes y se analizaron los datos correspondientes.

Fase III: Análisis Sensorial

La valoración sensorial es una función realizada consciente o inconsciente con el fin de aceptar o rechazar un alimento de acuerdo con las sensaciones experimentadas por medio de los sentidos (Sancho et al. 1999). Se realizó un análisis sensorial afectivo con una prueba de aceptación y una prueba de preferencia por ordenamiento.

Para la evaluación sensorial se reclutó un panel sensorial no capacitado de 100 personas. A cada panelista se le brindaron las cuatro muestras que incluían cada tratamiento y el control y una boleta (Anexo A). Para la codificación de cada tratamiento se empleó una numeración de tres dígitos al azar para evitar sesgo entre el panel.

Análisis de Aceptación

Se realizó una evaluación para conocer el agrado o disgusto de los panelistas sobre los atributos: apariencia, color, olor, sabor, viscosidad, acidez, dulzura y aceptación general. Los panelistas utilizaron una escala hedónica para categorizar el nivel de aceptabilidad (Liria Domínguez 2007). Se asignó una calificación entre 1 a 7 puntos, siendo la puntuación 1 Me desagrada extremadamente, 2 Me desagrada, 3 Me desagrada un poco, 4 No me desagrada ni me agrada, 5 Me gusta un poco, 6 Me gusta y 7 Me gusta extremadamente. El número correspondiente lo debían colocar en la casilla del atributo y muestra que estaban evaluando. Debajo de esa sección se les brindó un espacio para que expresaran sus observaciones respecto a la bebida.

Análisis de Preferencia por Ordenamiento

Esta prueba afectiva consistió en que los panelistas ordenaran las muestras de mayor a menor preferencia para conocer su elección sobre las otras muestras (Lawless y Heymann 2010). El orden era según el número, siendo: 1 para la muestra “más preferida” y 4 para la muestra “menos preferida”. Se les brindó un espacio para realizar observaciones.

Diseño Experimental y Análisis Estadístico

El método estadístico para identificar y cuantificar las causas de un resultado dentro de análisis estadístico es el diseño experimental (Muñoz Mendoza 2019). En este experimento se empleó un diseño experimental de Bloques Completos al Azar (BCA). Se evaluaron tres repeticiones de tres tratamientos y un control siendo un total 12 unidades experimentales para el análisis sensorial. Los datos obtenidos se analizaron en el programa SAS® por medio de un análisis de varianza (ANDEVA) y una separación de medias DUNCAN con nivel de confianza de 95%. Además, se realizó un estudio de correlación para el análisis de aceptación y así determinar la relación entre los atributos evaluados con respecto a la aceptación general de los panelistas.

Se utilizó una prueba Basker para conocer el tratamiento con mayor preferencia. Por medio de esta prueba se pueden analizar datos ordinales, no paramétricos y obligan al panelista a realizar una elección sobre las opciones que se le brindan (Lawless y Heymann 2010).

Fase IV: Análisis Físicoquímico y Calidad Nutricional

Para conocer las propiedades de un alimento, es necesario determinar la calidad del producto, si cumple con las normas alimentarias y los requisitos de etiquetado de nutrientes, ese último se refiere al análisis químico por el que pasa un alimento (Kumar y Gowda 2014). Según el Código de Regulaciones Federales (21CFR146.140 2022; 21CFR184.1979 2022) y Chandrakar et al. (2017) algunas de las propiedades físicoquímicas que deben tomarse en cuenta en bebidas son color, pH, acidez, viscosidad y grados Brix, sin embargo, también se consideró la calidad nutricional de la bebida. Por lo cual, el análisis de sólidos solubles, pH, viscosidad y color se realizaron a todos los tratamientos y la etiqueta nutricional y acidez titulable solo al control y tratamiento con mayor aceptación según los resultados del análisis sensorial.

Color

El análisis de color se realizó mediante la metodología AN 1018.00, usando el colorímetro Colorflex Hunter Lab, el cual mide el color utilizando escalas L^* , a^* , b^* . La coordenada L (luminosidad) donde 0 es negro y 100 es blanco; a (Rojo-verde) siendo rojo para valores positivos, verde para negativo y 0 como neutro; b (amarillo-azul) con valores positivos para amarillo, negativos para azul y 0 como valor neutro (Mathias-Rettig y Ah-Hen 2014).

pH

La concentración Hidrogeniónica (pH), es un logaritmo inverso a la concentración de iones de hidrogeno y de este puede depender el estado sanitario de un alimento (Artica Mallqui 2014). Esta mediada de acidez es un indicador importante para detener o prevenir el crecimiento de microorganismos (McGlynn 2016). Para determinar el pH de la bebida final, se empleó el método potenciométrico AOAC 981.12. El potenciómetro utilizado se calibró previamente con soluciones

buffer a pH 4, 7 y 10 a temperatura ambiente, alrededor de 25 °C. Se prepararon la misma cantidad para cada una de las muestras, se les introdujo el potenciómetro y se procedió a realizar la lectura.

Sólidos Solubles Totales (°Brix)

Los sólidos solubles tales como la presencia de azúcar y ácidos orgánicos están directamente relacionados con los grados Brix (Molina y Romano 2019). Según el Código de Regulaciones Federales (CFR 2012), los jugos no concentrados de mora contienen alrededor de 10 °Brix. Se evaluaron los grados Brix por medio de un refractómetro utilizando método oficial AOAC 983.17. Se colocaron 2 mL de la muestra sobre la sección de lectura del refractómetro y se tomó nota de los datos para su posterior interpretación.

Acidez Titulable

Para determinar la cantidad específica de ácido o base, se utiliza la característica química de acidez titulable (Tovar Zevallos 2018). Para obtener esta titulación se empleó el método AOAC 942.15, que requiere de un titulante, muestra o titulado e indicador. El agente titulante que actúa como base fue ácido clorhídrico (HCL) a una normalidad de 0.1008, este se colocó en una bureta y se dejó caer gota a gota hasta que se percibió una coloración diferente, un rosado más intenso al de la muestra y se leyó la cantidad utilizada. Para esto, se preparó la muestra 1 a 2 g en 50 mL de agua desionizada y 5 gotas de fenolftaleína que actúa como indicador, permite el cambio de color de la muestra. Durante todo el proceso se mezcló constantemente la solución y se tomó nota de los datos por duplicado. En adición, la acidez titulable según este método oficial AOAC, debe ser expresada por el ácido en mayor proporción siendo para el control expresada como ácido cítrico por presencia de la mora y en el tratamiento como ácido láctico por la presencia del lactosuero. Se utilizó la Ecuación 2.

$$At(\%) = \frac{V_{\text{ácido}} \times N_{NaOH} \times V_{NaOH}}{P_{\text{muestra}}} \times 100 \quad [2]$$

Donde:

At (%) = Porcentaje de acidez titulable

$F_{\text{ácido}}$ = factor constante según ácido en mayor cantidad (láctico = 0.09; cítrico = 0.045)

N_{NaOH} = Normalidad del NaOH

V_{NaOH} = mL usados de NaOH

P_m = Peso de muestra

Viscosidad

La viscosidad a determinada temperatura y pH explica el contenido total de sólidos (Bassi et al. 2012). Este análisis se llevó a cabo al siguiente día de realizar la bebida por medio del instrumento Brookfield, utilizando el método ISO 1652:2004. Para este se calibró el equipo y prepararon las muestras en un recipiente, se colocó el spinner #01. Posteriormente, se realizaron cinco lecturas a diferentes Revoluciones Por Minuto (RPM) y temperatura constante.

Análisis para Etiqueta Nutricional

Se desarrolló una etiqueta nutricional para el control y tratamiento con mayor preferencia y aceptación para conocer la calidad nutricional de la bebida siguiendo las directrices del Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) de Etiquetado Nutricional versión 67.01.60:10. Para la cual, se realizaron una serie de análisis químicos que incluyeron: humedad, cenizas, proteína cruda, grasa cruda, perfil de ácidos grasos, azúcares, fibra dietética y minerales como sodio.

Humedad.

Para determinar la humedad del tratamiento y el control, se siguió el método AOAC 945.15. Este análisis consistió en limpiar 6 platos pequeños de aluminio y someterlas a 105 °C por 1 hora para remover la humedad, se enfriaron en un desecador para posteriormente pesar las tres repeticiones de las muestras. Se rotularon los platos y se le colocó a cada uno 3 ± 0.02 g de la muestra y se colocaron en el horno al vacío a 85 °C por 2 horas. Luego, se retiraron y se colocaron en un desecador por 10 minutos para enfriarlas para después pesarlas. Se volvieron a colocar 4, 5, 9 y 10 veces más en el horno al vacío a la misma temperatura por 1 hora, cada vez se colocaron en el desecador y se pesaron hasta

lograr que el peso no cambiara. El análisis de humedad se expresó en porcentaje y se calcularon con la Ecuación 3:

$$\text{Humedad (\%)} = \frac{(A + MH) - (A + MS)}{MH} \quad [3]$$

Donde:

Humedad (%) = Porcentaje de humedad

A= Peso de plato de aluminio

MH= Peso de muestra húmeda

MS= Peso de muestra seca

Cenizas.

Para obtener la cantidad de cenizas totales se realizó el método AOAC 923.03. Se lavaron seis crisoles y se dejaron toda la noche con ácido nítrico (HNO₃) al 20%. Luego, se lavaron con jabónalconox y agua desionizada y se colocaron en el horno de convección Fisher Scientific 750 F a 105 °C por 4 horas. Los crisoles se pesaron y luego se les añadió 4 ± 0.04 g de muestra. No se realizó ningún pre-secado ya que se colocaron en un incinerador SYBRON Thermolyne a 550 °C por 7 horas. Luego, se retiraron las muestras del incinerador y se colocaron en un desecador por 1 hora para dejarlas enfriar y se registraron los pesos finales. Para determinar la cantidad de cenizas presentes en las muestras, se utilizó la Ecuación 4.

$$\text{Cenizas(\%)} = \frac{CZ}{MH} \times 100 \quad [4]$$

Donde:

Cenizas (%) = Porcentaje de cenizas

CZ = Peso de cenizas

MH = Peso de materia húmeda

Proteína Cruda.

El porcentaje de proteína cruda de las muestras se encontraron por medio del método AOAC 2001.11. Esta metodología de Kjeldahl determina la cantidad de nitrógeno orgánico presente en la estructura de las proteínas en tres etapas: digestión, destilación y titulación (Subroto et al. 2020).

En un tubo Kjeltec se colocó 1 ± 0.05 g de muestra y se le adicionaron 20 mL de agua desionizada. Los primeros 2 tubos eran blancos, a los tubos 17 y 18 se les colocó 0.10 ± 0.005 g de sulfato de amonio y a los tubos 19 y 20 se les agregó 0.10 ± 0.005 g de acetanilida. Luego, inició el proceso de digestión en el que se le colocaron 2 tableas de catálisis, compuesto por sulfato de potasio y sulfato de cobre, a cada tubo Kjeltec y se le añadieron 12 mL de ácido sulfúrico ya que el contenido de grasa es bajo. Se procedió a colocar los tubos en el digestor por 2 horas, cuando terminó, se dejaron enfriar por 30 minutos. Después, se procedió con el proceso de destilación que consistía en ubicar un erlenmeyer y el tubo Kjeltec que pasó por el digestor en el lugar correspondiente del analizador de proteína Kjeldahl de Foss. Se utilizó el programa 1 con 4.3 minutos, 80 mL de agua, 30 mL de ácido bórico y 50 mL de ácido sulfúrico. Mientras una muestra estaba en el digestor, se tituló con una bureta de 50 mL que contenía ácido clorhídrico a 0.1 M el contenido del Erlenmeyer hasta alcanzar un color fucsia. Se anotó el volumen utilizado del ácido. Finalmente, se introdujo en la Ecuación 5 los datos obtenidos para conocer la cantidad de proteína.

$$N(\%) = NHCl \times \frac{(Vol. \text{ácido gastado} - Vol. \text{blanco})}{g \text{ muestra}} \times \frac{14g}{1000} \times 100 \quad [5]$$

$$Proteína (\%) = N(\%) \times 6.25$$

Donde:

N (%) = Porcentaje de nitrógeno orgánico

N = Normalidad del ácido clorhídrico

Según Subroto et al. (2020), el catalizador utilizado durante la digestión convierte el nitrógeno presente en la proteína en sulfato de amonio que puede ser cuantificado, de tal manera que la

solución destilada usa hidróxido de sodio para liberar amoníaco y poder absorberlo como ácido bórico. Así pues, el ácido clorhídrico reacciona con el amoníaco permitiendo la contabilidad de nitrógeno por medio de la suposición de que el factor de conversión es de 6.25 ya que la mayor parte de proteínas contiene el 16% de nitrógeno.

Carbohidratos Disponibles.

Para la determinación del contenido de carbohidratos (CHO's) o extracto libre de nitrógeno se utilizó el método CFR 101.45. Este requiere del previo análisis de grasa, fibra, proteínas, humedad y cenizas para determinar por diferencia el valor presente de hidratos de carbono. Por lo tanto, se utilizó la Ecuación 6.

$$ELN(\%) = 100 - (CZ(\%) + H(\%) + G(\%) + F(\%) + P(\%)) \quad [6]$$

Donde:

ELN (%) = Porcentaje de extracto libre de nitrógeno

CZ (%) = Porcentaje de cenizas

H (%) = Porcentaje de humedad

G (%) = Porcentaje de grasa

F (%) = Porcentaje de fibra

P (%) = Porcentaje de proteína

Fibra Dietética.

Para obtener el valor de fibra dietética presente en el control y tratamiento con mayor aceptación, se siguió la metodología AOAC 985.29. Para esto, se utilizaron crisoles de Gooch lavados y enjuagados con acetona, aparte, se le añadieron a cada uno 0.5 g de celite, tierra diatomea que se utiliza para filtrar durante la destilación, y se secaron por tres horas a 105 °C. Mientras se secaban, se inició el proceso de digestión enzimática para lo cual se pesó 1 ± 0.05 g de muestra en un beaker Berzelius, se le añadieron 50 mL de solución tampón de fosfato y se mezclaron en un agitador magnético. Se le agregaron 100 μ L de α -amilasa termoestable y se cubrieron los beaker con papel

aluminio para poder encubarlos en baño maría durante 15 minutos, desde que la temperatura interna del beaker era de 95 °C, y se dejaron enfriar a temperatura ambiente. La segunda enzima que se le añadió fue 100 µL de proteasa y 10 mL de hidróxido de sodio, se ajustó el pH con el hidróxido o ácido clorhídrico, y se volvió a colocar en baño maría por 30 minutos a 60 °C, agitando constantemente e igual se dejó enfriar a temperatura ambiente. Después, se le añadieron 10 mL de ácido clorhídrico y 100 µL amiloglucosidasa y se ajustó el pH a 4.4 y se llevó a baño maría por 30 minutos a 60 °C con agitación constante. Finalmente, se le añadió 280 mL de etanol al 95% previamente precalentado a 60 °C y se dejó enfriar.

Una vez se terminó la fase enzimática, se inició la fase de filtración para la cual se consideró el peso del crisol de gooch. Se colocó de tal manera que se pudiera filtrar al vacío, se humedeció con etanol al 78% el celite en el crisol y poco a poco se fue vertiendo la mezcla obtenida de la digestión enzimática, por último, se realizaron lavados del beaker con etanol al 78%, etanol al 95% y acetona. Se dejó toda la noche en el horno a 105 °C y al siguiente día se dejó enfriar en el desecador para luego pesar el crisol que contenía el celite y residuos de fibra dietética. Los datos se recolectaron durante todo el proceso para sustituirlos en la Ecuación 7.

$$Fibra (\%) = \frac{(P_f - P_c - P_p)}{P_o} \times 100 \quad [7]$$

Donde:

Fibra (%) = porcentaje de fibra

P_o = peso inicial

P_c = peso cenizas

P_p = peso proteínas

P_f = peso final

Grasa.

La cantidad de grasa total que aporta la bebida se determinó empleando el método AOAC 983.23-1984. Este análisis se realizó por triplicado al control y tratamiento con mayor aceptación. Se preparó una solución de 2:1 de cloroformo-metanol respectivamente. Para el estudio se utilizaron 15 ± 0.005 g de muestra con 150 mL de la solución y se agitaron por 2 horas sobre una plancha magnética. Mientras tanto, se lavaron, secaron, rotularon y pesaron balones de vidrio de 250 mL. Una vez la muestra estaba homogénea, se filtró con ayuda de un embudo, 2 filtros de papel y 10 ± 0.005 de sulfato de sodio hacia el balón correspondiente. Después, por medio del roto evaporador se evaporaron el solvente, metanol, y luego el cloroformo. Las presiones utilizadas fueron de 474 Hg para el metanol y 337 Hg para el cloroformo. Así mismo, el baño maría se encontraba entre 50-60 °C. Una vez se consumió la mayor cantidad de líquidos, se colocaron por 2 horas los balones en el horno. Para este estudio, fue necesario añadirles otros 60 mL de solución cloroformo-metanol y repetir todos los pasos. Finalmente, se retiraron del horno a 105 °C y se dejaron enfriar por 30 minutos en un desecador para posteriormente poder obtener el peso final. Se registraron todos los datos obtenidos y se utilizó la Ecuación 8 para encontrar la cantidad total de grasa.

$$Grasa (\%) = \frac{P_{muestra}}{P_f - P_{balón}} \times 100 \quad [8]$$

Donde:

Grasa (%) = porcentaje de grasa total

$P_{muestra}$ = peso de la muestra inicial

P_f = peso final de la grasa en el balón

$P_{balón}$ = peso balón seco

Perfil de Ácidos Grasos.

Para determinar el contenido de ácidos grasos, en el control y tratamiento 1, se llevaron a cabo tres fases. A primera fase fue la extracción de grasa por cloroformo-metanol, los balones con

grasa obtenidos se utilizaron para realizar este análisis por triplicado. La segunda fase fue la preparación de metil ésteres de ácidos grasos según el método AOCS Ce 2b-11 y Ce 2-66. Para este, a los balones se les añadió 2 mL de isooctano para cromatografía de gases, se raspó todo el contenido y se trasladó a un tubo de ensayo previamente etiquetado. En el tubo de ensayo se le añadió 0.5 mL de hidróxido de potasio metanólico (KOH) al 2M. Luego, se agitaron por 8 minutos los tubos de ensayo en un vortex, posteriormente se dejaron reposar 10 minutos, para la separación de fases. Después de transcurrir el tiempo, se transfirieron 0.75 o 1 mL de la fase orgánica (fase superior) a un tubo con 4 mL de KOH. Esos tubos también se agitaron por 8 minutos y se dejaron reposar por 10 minutos. Finalmente, la tercera fase consistió en extraer 1 mL de los tubos, colocarlos en viales color ámbar para proceder al análisis por el método AOCS Ce 1j07. Se utilizó el cromatógrafo de gases (Agilent Technologies modelo 7890^a system) y la identificación de los ácidos grasos se confirmó mediante el tiempo de retención del análisis de cada muestra según los tiempos de retención de un estándar de referencia GLC 463 (un-Chek Prep, EUA). Para cuantificar la presencia de los ácidos grasos se utilizó una plantilla con 53 ácidos grasos representados en el estándar de referencia.

Azúcares.

Se utilizó el método AOAC 982.14 para conocer el perfil de azúcares presentes en el control y tratamiento con mayor aceptación, se realizó por triplicado. Para ello, se pesó 1 ± 0.005 g de muestra en matraces volumétricos. Se agregó 100 mL de etanol a cada muestra para colocar cada matraz en baño maría a 80 °C por 25 minutos. Posteriormente, se aforó el matraz con etanol. Una porción de la muestra se colocó en una jeringa con filtro, de tal manera, se les añadieron a los viales 1.5 mL. Luego, se colocaron los viales en el Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución (HPLC por sus siglas en inglés) para su análisis. El HPLC utilizó una columna Hi Plex Ca 300 x 7.7 mm 8 μ m con detector IR, la temperatura óptima fue de 85 °C, flujo de 0.6 mL/min durante 20 minutos con un volumen de inyección de 20 μ L y la fase móvil fue agua desionizada. Para cuantificar la presencia de azúcares se utilizó una plantilla con diferentes azucares representados en los estándares de referencia.

Minerales.

El análisis de minerales se realizó según AOAC 985.35. Para la preparación de muestras inicialmente la muestra se hizo ceniza siguiendo el método AOAC 923.03. Las cenizas se introdujeron en un matraz volumétrico de 100 mL y se le añadió HNO₃ a 1 M. Las muestras se enviaron al Laboratorio de Suelos Zamorano, en donde se continuó el método y los resultados de las cantidades presentes de minerales fueron compartidos para su posterior estudio.

Diseño Experimental y Análisis Estadístico para Análisis Fisicoquímicos

Para los atributos de pH, sólidos totales, color, y viscosidad se realizó un diseño experimental completamente aleatorizado (DCA) para evaluar las características de todas las muestras. Los datos tabulados se analizaron en el programa SAS® por medio de un análisis ANDEVA y separación de medias DUNCAN con nivel de significancia del 95%. Por otro lado, para el atributo de acidez titulable se utilizó un diseño de muestras independientes a través de una prueba t. En este último se consideró solo el tratamiento con mayor preferencia y el control, siendo un total de dos variables con dos repeticiones, cuatro unidades experimentales.

Resultados y Discusión

Fase I. Pruebas Preliminares y Determinación de la Formulación de la Bebida

Se formularon los tratamientos y control añadiendo diferentes cantidades de concentrado de mora, lactosuero dulce y agua potable (Cuadro 3). Los β -glucanos solo se les adicionaron a los tratamientos, 0.243 g de esta fibra por cada 100 mL. El control corresponde a la recomendación dada en la etiqueta del concentrado de mora de Zamorano. Según Calderon et al. (2022), las formulaciones con lactosuero fueron aceptadas cuando este se encontraba en menos del 70%, pero el concentrado de mora aportaba mucho dulzor así que se utilizaron formulaciones arriba de lo mencionado en la literatura.

Cuadro 3

Formulaciones de la bebida funcional.

	Ingredientes		
	Lactosuero	Agua	Concentrado de mora
T1 [☆]	75 %	0 %	25 %
T2 [☆]	85 %	0 %	15 %
T3 [☆]	90 %	0 %	10 %
Control	0 %	75 %	25 %

Nota. [☆]: tratamientos que se le adicionaron 0.243 g de β -glucanos por cada 100 mL. Control: jugo de mora. T1: tratamiento 1, 75% lactosuero y 25% concentrado de mora. T2: tratamiento 2, 85% lactosuero y 15% concentrado de mora. T3: tratamiento 3, 90% lactosuero y 10% concentrado de mora.

Para conocer la composición nutricional teórica de las formulaciones elegidas, se utilizaron las tablas de composición de alimentos del INCAP (2018). Para esto, se calculó la cantidad de calorías que aportaría cada formulación (Cuadro 4) a la dieta de la población objetivo, estudiantes de Zamorano. Por lo cual, para 100 mL de bebida, se estimó un aporte menor de 100 kcal. En la categoría de “Café y jugos naturales” de la Guía de Alimentación para Facilitadores de Salud de Honduras (Gobierno de la República de Honduras 2015), los valores de calorías llegan hasta 84 calorías por porción, por lo cual todas las muestras se encontraron en este rango con respecto a la energía aportada.

Cuadro 4

Composición nutricional teórica de los tratamientos de la bebida funcional (100 mL).

	Energía (kcal)	Proteína (g)	Carbohidratos (g)	Grasa (g)
T1	78.0	0.71	19.96	0.27
T2	57.6	0.77	14.03	0.31
T3	47.4	0.80	11.07	0.32
Control	67.8	0.74	16.99	0.29

Nota. Tomado del INCAP (2018). Control: jugo de mora. T1: tratamiento 1, 75% lactosuero y 25% concentrado de mora. T2: tratamiento 2, 85% lactosuero y 15% concentrado de mora. T3: tratamiento 3, 90% lactosuero y 10% concentrado de mora. Kcal: calorías. g: gramos.

Fase II: Análisis Microbiológicos de la Bebida

Se llevaron a cabo los análisis para los tres tratamientos y el control de manera individual y se evaluaron los datos (Cuadro 5).

Los resultados de bacterias coliformes fueron negativos en todos los casos. Las bacterias coliformes actúan como indicador de inocuidad durante el proceso de elaboración de alimentos, así mismo, no deberían de estar presentes en bebidas pasteurizadas que han sido expuestas a alguna otra manipulación luego del tratamiento térmico (Martin et al. 2016). Es así como se verifica las que han seguido prácticas higiénicas durante la elaboración de la bebida.

Según FDA (2001), las condiciones ideales para el crecimiento de hongos y levaduras son pH de 2 hasta 9, temperatura de 10 a 35 °C y humedad. Así pues, estos suponían un riesgo para la bebida debido a que provocan diferentes grados de descomposición, en adición con que la bebida cumple con todas las características para permitir el desarrollo de estos. Los resultados obtenidos del método de vaciado en placa con el medio de cultivo Agar Rosa Bengala fueron menores a los límites permitidos. Como se muestra en el Cuadro 5, las formulaciones cumplieron con los límites máximos permitidos de contaminación por hongos y levaduras. De esta manera, el tratamiento térmico de 63 – 65 °C por 30 minutos aplicado por medio de máquina Instant Pot, efectuó una pasteurización por tandas, que contribuyó a la destrucción o inactivación de esporas de la levadura u hongos. La OPS (2015), atribuye el uso de un tratamiento térmico con temperatura y tiempo adecuados para crea una

herramienta de prevención al crecimiento de microorganismos patógenos, sin embargo, se deben considerar más factores.

De acuerdo con la ANMAT y ReNaLOA (2014), las BMA refleja la calidad sanitaria del producto analizado. Así pues, se reportaron conteos inferiores al límite máximo permitido para estas bacterias patógenas que utilizaron el método vaciado en placa con medio de cultivo ACE. Por lo tanto, se justifica que el tratamiento térmico y manipulación de la materia fue la adecuada.

Cuadro 5

Resultados de los análisis microbiológicos en UFC/mL realizados a la bebida funcional.

Muestra	Coliformes	Bacterias aerobias mesófilas	Mohos y levaduras
T1	Ausencia	77 ^{VE}	3 ^{VE}
T2	Ausencia	38 ^{VE}	3 ^{VE}
T3	Ausencia	57 ^{VE}	7 ^{VE}
Control	Ausencia	63 ^{VE}	3 ^{VE}
M	Ausencia	100	10

Nota. ^{VE} = valor estimado. M = límite permitido (Cuadro 2). Control: jugo de mora. T1: tratamiento 1, 75% lactosuero y 25% concentrado de mora. T2: tratamiento 2, 85% lactosuero y 15% concentrado de mora. T3: tratamiento 3, 90% lactosuero y 10% concentrado de mora. UFC: unidades formadoras de colonias. mL: mililitros.

Fase III: Análisis Sensorial de Aceptación y Preferencia

Prueba de Aceptación Sensorial

Se llevó a cabo una prueba afectiva de aceptación para estudiar el gusto y preferencia según la percepción de un panelista guiándose en la intensidad de un atributo en específico (Severiano-Pérez 2019). En los Cuadros 6 y 7, se presentan las medias de los atributos sensoriales para cada una de las formulaciones según la escala hedónica de 7 puntos. En su mayoría, las formulaciones presentaron diferencia estadística significativa, siendo el control el mejor aceptado seguido del tratamiento 1.

Color y Apariencia.

Según Lopez et al. (2016), la apariencia y el color son los primeros parámetros visuales que se evalúan por el consumidor y están directamente relacionados con la aceptación o rechazo del alimento. En adición, Lawless y Heymann (2010), mencionan que los colores más profundos tienden a obtener mejores calificaciones. Además, según el estudio de Pilacúan Hernández (2021) el color no

presentó diferencia significativa entre tratamientos porque el porcentaje de mora y lactosuero en cada tratamiento eran similares, varían máximo 3%. Para las formulaciones de este estudio se realizó un cambio de 10 y 15% de concentrado de mora o lactosuero en los tratamientos, por lo cual, se justifica la diferencia estadísticamente significativa entre las muestras (cuadro 6). En este estudio, al incrementar el contenido de lactosuero y reducir el contenido de concentrado de mora se redujo la aceptación de la apariencia y el color. El tratamiento con la mayor cantidad de lactosuero obtuvo la aceptación más baja. El control fue el mejor evaluado como “Me gusta”, luego el tratamiento 1 fue calificado como “Me gusta un poco”. El control y tratamiento 1 contenían la misma cantidad de concentrado, pero por la adición de lactosuero al tratamiento presentó un color más opaco. Sin embargo, el efecto del suero de leche presenta una oportunidad al evitar la degradación de las antocianinas, estas responsables de las tonalidades moradas o rojas y diversos beneficios a la salud (Ren et al. 2021). Así pues, el color es esencial para determinar el grado de aceptación y conocer si al consumidor le agrada la apariencia o no de un alimento (Melton et al. 2019).

Olor.

Las poblaciones tienen una memoria olfativa que busca relacionar los olores conocidos con los desconocidos y así evaluar su aceptación o no (Severiano-Pérez 2019). El olor se percibe debido a las sustancias volátiles liberadas por los alimentos (UPAEP 2014). Se encontraron diferencias significativas entre todas las formulaciones (Cuadro 6). Amador Villalba et al. (2020), al realizar una bebida que contenía 70% lactosuero y 30% mora el atributo de olor fue evaluado como moderado que correspondería a un “No me desagradó ni me agrada”, sin embargo, el tratamiento 1 que contiene una cantidad similar de ambos ingredientes fue evaluado como “Me gusta un poco”. también, el control fue evaluado como “Me gusta” y el tratamiento 2 y 3 como “No me desagradó ni me agrada”. Sin duda, el suero le confiere cierto olor ligeramente ácido que puede no ser agradable para el panelista (Guerrero et al. 2011). Por otro lado, la mora brinda un ligero olor dulce (Barrera et al. 2019).

Parecido a lo descrito por Muñoz et al. (2019), los tratamientos con menor cantidad de lactosuero presentaron mejor aceptación.

Sabor.

Todos los tratamientos presentaron diferencia significativa (Cuadro 6). El control obtuvo la mayor aceptación seguido del tratamiento 1, luego el tratamiento 2 y por último el tratamiento 3. Estos resultados contradicen lo mencionado por Vivas et al. (2016), en donde la mejor puntuación correspondió al tratamiento con menor cantidad de pulpa de mora. Además, en este estudio a medida que aumentó el contenido de suero disminuyó la aceptación con respecto al sabor de la bebida. Esto se puede atribuir a que el suero de leche intensifica la sensación de astringencia debido a la acidez y sabor residual que brinda (Carter et al. 2020).

Cuadro 6

Resultados del análisis sensorial para los atributos color, olor, apariencia y sabor evaluados en cada tratamiento.

	Apariencia	Color	Olor	Sabor
	Media \pm D.E.	Media \pm D.E.	Media \pm D.E.	Media \pm D.E.
T1	5.22 \pm 1.39 ^b	5.41 \pm 1.38 ^b	4.84 \pm 1.31 ^b	5.22 \pm 1.68 ^b
T2	4.23 \pm 1.49 ^c	4.28 \pm 1.48 ^c	4.01 \pm 1.37 ^c	3.79 \pm 1.57 ^c
T3	3.59 \pm 1.54 ^d	3.82 \pm 1.61 ^d	3.92 \pm 1.30 ^c	3.38 \pm 1.57 ^d
Control	6.03 \pm 1.09 ^a	5.98 \pm 1.25 ^a	5.52 \pm 1.23 ^a	5.67 \pm 1.12 ^a
CV%	23.42	22.29	23.39	29.83

Nota. ^{a b c d}: Medias con letras minúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P \leq 0.05$).

D.E.: desviación Estándar. CV%: coeficiente de variación. Escala hedónica: 1 Me desagrada extremadamente, 2 Me desagrada, 3 Me desagrada un poco, 4 No me desagrada ni me agrada, 5 Me gusta un poco, 6 Me gusta y 7 Me gusta extremadamente. Control: jugo de mora. T1: tratamiento 1, 75% lactosuero y 25% concentrado de mora. T2: tratamiento 2, 85% lactosuero y 15% concentrado de mora. T3: tratamiento 3, 90% lactosuero y 10% concentrado de mora.

Viscosidad.

Las bebidas presentaron diferencia significativa, así pues, el control presentó mayor aceptación con una valoración de "Me gusta", el tratamiento 1 como "Me gusta un poco" y los otros dos tratamientos sin diferencia significativa se evaluaron como "No me desagrada ni me agrada" (cuadro 7). Según Gavilanes López et al. (2018), el tratamiento con 50% de suero se valoró como "Me

gusta un poco” y los que contenían 70% suero se catalogaron en “Me desagrada”. La diferencia entre estudio y otros fue causada por la cantidad de suero de leche añadida y también los β -glucanos que contribuyen a la formación de soluciones más viscosas al ser adicionados a algún líquido (Rebello et al. 2014; Alayo Rojas 2017).

Acidez.

Para el atributo de acidez existió diferencia estadísticamente significativa siendo el control el que mostró mayor aceptación, seguido del tratamiento 1 y los tratamientos 2 y 3 presentaron la menor aceptación (cuadro 7). Entonces, se pudo determinar que los tratamientos con mayor concentrado de mora y menor contenido de lactosuero fueron más aceptados con respecto a acidez. La mora aumenta el grado de acidez por el alto contenido de ácidos orgánicos y antioxidantes (Grande-Tovar et al. 2020). Así mismo, el lactosuero dulce puede aportar cierto grado de acidez a la bebida a pesar de que posee una acidez baja que no supera 2 g/L de ácido láctico (Mazorra-Manzano y Moreno-Hernández 2019).

Cuadro 7

Resultados del análisis sensorial para los atributos de viscosidad, acidez, dulzura y aceptación general evaluados en cada tratamiento.

	Viscosidad	Acidez	Dulzura	Aceptación general
	Media \pm D.E.	Media \pm D.E.	Media \pm D.E.	Media \pm D.E.
T1	4.94 \pm 1.68 ^b	5.23 \pm 1.39 ^b	5.02 \pm 1.64 ^b	5.23 \pm 1.37 ^b
T2	4.25 \pm 1.62 ^c	4.24 \pm 1.66 ^c	4.16 \pm 1.79 ^c	4.18 \pm 1.51 ^c
T3	4.10 \pm 1.57 ^c	3.93 \pm 1.74 ^c	3.80 \pm 1.85 ^c	3.61 \pm 1.50 ^d
Control	5.62 \pm 1.25 ^a	5.40 \pm 1.30 ^a	5.46 \pm 1.25 ^a	5.86 \pm 0.98 ^a
CV%	23.77	26.64	28.34	22.99

Nota. ^{a b c d}: Medias con letras minúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P \leq 0.05$).

D.E.: Desviación Estándar. CV%: Coeficiente de Variación. Escala hedónica: 1 Me desagrada extremadamente, 2 Me desagrada, 3 Me desagrada un poco, 4 No me desagrada ni me agrada, 5 Me gusta un poco, 6 Me gusta y 7 Me gusta extremadamente. Control: jugo de mora. T1: tratamiento 1, 75% lactosuero y 25% concentrado de mora. T2: tratamiento 2, 85% lactosuero y 15% concentrado de mora. T3: tratamiento 3, 90% lactosuero y 10% concentrado de mora.

Dulzura.

La capacidad que posee una persona de detectar dulzura es uno de los factores que influyen en la aceptación de los alimentos (Low et al. 2014). El orden de aceptación de dulzura fue: control, tratamiento 1, tratamiento 2 y 3 (cuadro 7). Estos dos últimos no presentaron diferencia entre sí, pero sí con respecto a los otros. De manera similar, el suero posee lactosa que es un disacárido con poder edulcorante bajo, sin embargo, contener altas concentraciones de esta azúcar produce un sabor desagradable (Gómez Soto y Sánchez Toro 2019). Los resultados obtenidos por Amador Villalba et al. (2020) con respecto a dulzura comparados con este estudio son similares sin tomar en cuenta el control, en ambos casos los tratamientos con mayor cantidad de lactosuero presentaron mayor dulzura. En esta investigación también se le atribuye la dulzura al concentrado de mora porque según la etiqueta del envase el segundo ingrediente en mayor cantidad es azúcar.

Aceptación General.

Este atributo representa la aceptación de todos los aspectos anteriormente evaluados. El control presentó la mejor aceptación como "Me gusta", esta selección se puede atribuir a que los estudiantes consumen regularmente esta bebida durante las comidas en el comedor estudiantil de Zamorano. Por otro lado, el tratamiento 1 fue el segundo mejor evaluado como "Me gusta un poco", luego el tratamiento 2 y por último el tratamiento 3 (cuadro 7). Todas las formulaciones presentaron diferencia estadística significativa entre sí. Campos (2019), en su revisión de literatura reportó que las bebidas con menor contenido de suero tienden a ser las preferidas, estas también presentaron mayor aceptación con respecto a los atributos de color, sabor y olor. Además, Gavilanes López et al. (2018) atribuyó que el aumento de lactosuero es lo que empobrece la aceptación general y Vivas et al. (2016), imputaron que era necesario un estabilizador para mantener una consistencia homogénea porque al no presentarse esta afecta la aceptación.

De acuerdo con el análisis de correlación (Cuadro 8), todos los atributos indican una asociación positiva con respecto a la aceptación general. Turkmen et al. (2019), señalan que los atributos que

presentaron mayor correlación fueron el olor y sabor debido a la cantidad de suero añadida en las bebidas. Sin embargo, en este estudio la mayor correlación con respecto a la aceptación general fue de sabor y dulzura siendo alta (> 0.80000). Los otros atributos presentaron una correlación de Pearson media ($> 0.50000 - 0.79000$). Tal como describen Muñoz I et al. (2017), innegablemente la dulzura es un factor fundamental ya que la mayoría de las personas tiende a inclinarse por alimentos y bebidas con sabor dulce.

Cuadro 8

Resultados del análisis de correlación de Pearson y probabilidad.

	Atributos						
	Color	Olor	Apariencia	Sabor	Viscosidad	Acidez	Dulzura
r	0.71141	0.73694	0.76853	0.87034	0.76573	0.76699	0.82597
P> t	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001

Nota. r: correlación de Pearson. Control: jugo de mora. Pr>|t|: probabilidad.

Prueba de Preferencia

Mediante esta prueba, fue posible identificar cuál fue el tratamiento más preferido y menos preferido. Se realizó una sumatoria del número que correspondía a la preferencia, este valor se ordenó como lo solicita la prueba Basker (Cuadro 9). A los valores que se colocan en la columna, se le resta el valor en la fila para conocer la interacción entre muestras. Entonces, según la tabla de “Valor crítico de diferencia entre suma de categorías” se obtuvo que el valor crítico para este estudio fue de 46.9 (Liria 2017). Este valor indica que todo número absoluto arriba de este presenta diferencia estadística. Por lo tanto, no presentan diferencia el control y tratamiento 1; ni el tratamiento 2 y tratamiento 3. Tal como Montoya y Alcaraz (2016) señalan, las personas tienden a preferir los productos dulces y según el análisis sensorial el control fue el que contenía mejor aceptación con respecto a la dulzura seguido del tratamiento 1. Los resultados de esta prueba son similares a el estudio de Campos (2019), en donde la bebida con menor contenido de lactosuero fue la más preferida, pero en ese caso era 40% lactosuero y 60% jugo de naranja.

Cuadro 9

Resultados de la prueba de preferencia usando la Prueba Basker.

Muestras		T1	T2	T3	Control
		189	310	343	158
T1	189	0	- 121	- 154	31
T2	310	121	0	-33	152
T3	343	154	33	0	185
Control	158	-31	- 152	- 185	0

Nota. Valor crítico para prueba Basker: 46.9. Control: jugo de mora. T1: tratamiento 1, 75% lactosuero y 25% concentrado de mora. T2: tratamiento 2, 85% lactosuero y 15% concentrado de mora. T3: tratamiento 3, 90% lactosuero y 10% concentrado de mora.

Fase IV: Análisis Físicoquímico y Calidad Nutricional**Color**

En el Cuadro 10 se presentan los resultados de color para todas las muestras en escalas de L*, a*, b*. El valor L* (luminosidad) del tratamiento 3 fue el más claro y el más oscuro fue el control, esto debido a la presencia de menor o mayor cantidad de concentrado de mora respectivamente. La luminosidad también se vio afectada por la cantidad de lactosuero, este al presentar un color amarillo verdoso contrarrestó el color proveniente de los antioxidantes. El valor a* (rojo-verde) en todas las muestras tuvieron una predominancia de colores rojos, este por la presencia del concentrado de mora que contiene antocianinas, colorante natural que brinda tonalidad roja, morada o negra (Rasheed et al. 2017). El tratamiento 1 y 3 presentaron diferencias significativas, siendo el tratamiento 1 el que presentó mayor tonalidad roja. La coordenada b* (Amarillo-azul), al ser positivos todos estos valores indican tendencia a colores amarillentos. El tratamiento 3 presentó mayor tonalidad amarilla seguido del tratamiento 2; y el control y tratamiento 1 presentaron mayor coloración azul. Según Rodoni et al. (2017), el valor b* es el más afectado por el tratamiento térmico causando una degradación de color. Según Solórzano et al. (2015), entre menos luminosidad, mayor valor a* y mayor valor b* resulta una mayor concentración de sólidos.

Cuadro 10

Resultados de color (L a b*) de la bebida funcional.*

Variable	T1	T2	T3	Control	CV%	Pr> t
	Media ± D.E.	Media ± D.E.	Media ± D.E.	Media ± D.E.		
L	26.19 ± 0.34 ^c	43.16 ± 1.05 ^b	52.06 ± 1.47 ^a	11.28 ± 0.38 ^d	1.67	<0.0001
a*	16.91 ± 0.42 ^a	12.74 ± 0.25 ^{ab}	10.03 ± 0.31 ^b	14.57 ± 0.21 ^{ab}	10.58	0.0586
b*	2.08 ± 0.12 ^c	4.35 ± 0.16 ^b	6.17 ± 0.37 ^a	2.70 ± 0.22 ^c	8.76	0.0035

Nota. L: luminosidad, blanco a negro (100 a 0). a*: cromaticidad, rojo a verde (+60 a -60). b*: amarillo a azul (+60 a -60)^{a b c d}: Medias con

letras minúsculas diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P \leq 0.05$). Pr>|t|: probabilidad. D.E.:

Desviación Estándar. CV%: Coeficiente de Variación. Control: jugo de mora. T1: tratamiento 1, 75% lactosuero y 25% concentrado de mora.

T2: tratamiento 2, 85% lactosuero y 15% concentrado de mora. T3: tratamiento 3, 90% lactosuero y 10% concentrado de mora.

Sólidos Solubles Totales (°Brix)

La cantidad de sólidos solubles entre tratamientos presentaron diferencia estadísticamente significativa. La mayor cantidad de °Brix fue presentada por el tratamiento 1 (Cuadro 11). Tal como mencionan Robles (2016) y Alava Viteri et al. (2014), el concentrado de mora posee alrededor de 23 y el suero de leche 6.5 de °Brix. Por lo tanto, se justifica que a medida disminuía la cantidad de concentrado y aumentaba el contenido de lactosuero, los °Brix disminuían. Para el control los sólidos solubles aportados por el concentrado fueron menores porque estos se diluyeron solo en agua.

Cuadro 11

Resultados de pH y °Brix de la bebida funcional.

Variable	T1	T2	T3	Control	CV%	Pr> t
	Media ± D.E.	Media ± D.E.	Media ± D.E.	Media ± D.E.		
°Brix	21.87 ± 0.86 ^a	19.87 ± 0.40 ^b	15.87 ± 0.60 ^d	17.93 ± 0.45 ^c	3.64	0.0018
pH	3.59 ± 0.18 ^c	4.24 ± 0.24 ^b	4.56 ± 0.06 ^a	2.78 ± 0.18 ^d	12.11	0.0023

Nota. ^{a b c d}: Medias con letras minúsculas diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P \leq 0.05$).

Pr>|t|: probabilidad. D.E.: Desviación Estándar. CV%: Coeficiente de Variación. Control: jugo de mora. T1: tratamiento 1, 75% lactosuero y

25% concentrado de mora. T2: tratamiento 2, 85% lactosuero y 15% concentrado de mora. T3: tratamiento 3, 90% lactosuero y 10%

concentrado de mora.

pH

Según el RTCA 67.04.48:08 (COMIECO 2008), si una bebida contiene el 25% de jugo o pulpa de cualquier fruta puede ser considerado un néctar. Así mismo, este reglamento menciona que el pH del néctar no debe superar el valor de 4.5. Bajo este contexto, el control y tratamiento 1 cumplen

ambas, el tratamiento 2 solo la condición de pH y el tratamiento 3 ninguna. A pesar de ello, el potencial de hidrogeno si presentó diferencia significativa en todos los tratamientos, el orden de más ácido a más alcalino fue: control, tratamiento 1, tratamiento 2 y tratamiento 3; entonces entre más concentrado de mora mayor acidez. Por los valores obtenidos (Cuadro 12) en comparación a la clasificación dada por Guevara (2015), el pH del control es considerado con acidez alta (pH entre 2.5 – 3.5), el tratamiento 1 como acidez media (pH entre 3.5 – 4.2) y el tratamiento 2 y 3 como baja acidez (pH mayor de 4.2). Así mismo, según Guevara (2015), la acidez de los jugos o néctares debería ser menor a un pH de 3.8, si no, es necesario regularlo con ácido cítrico. No obstante, el suero dulce de leche como tal debería de poseer un pH arriba de 5.6 (Gami et al. 2016). Estos hallazgos pueden atribuirse a la acidez aportada por el concentrado de mora, ya que es la materia prima que teóricamente presenta mayor pH. Como lo mencionan Jin y Kirk (2018), el pH disminuye la incidencia de diferentes microorganismos patógenos, ya que la mayoría crecen en pH mayores de 4.

Acidez Titulable

Se evaluó este parámetro ya que indica la cantidad de base necesaria para que un producto alcance un pH neutro (Ruilova Carrión et al. 2018). Se evaluaron solo las muestras que cumplían la condición de pH (< 4.5) y porcentaje de jugo (25%) dadas en el RTCA 67.04.48:08 que también menciona que la acidez debe ser mayor a 0.5%, así mismo, estas muestras coincidieron con el control y tratamiento con mayor aceptación (COMIECO 2008). En adición, Mendoza García (2021), menciona que la acidez del jugo de mora se debe encontrar entre 0.76 hasta 3.1% expresado como ácido cítrico y depende de condiciones como madurez del fruto y sólidos solubles. Por otro lado, la acidez titulable del lactosuero reportada por Paredes Montoya et al. (2014), se encontró de 0.14 a 0.46% expresado como ácido láctico. Por lo tanto, el control posee una acidez de 0.91% expresada como ácido cítrico y el tratamiento 1 una acidez de 3.15% expresada como ácido láctico (Cuadro 12). Entonces, ambas muestras cumplen la pauta del RTCA, se encuentran dentro del rango de jugo de mora, pero están sobre el rango que se había reportado para suero de leche.

Cuadro 12

Resultados de acidez titulable de las muestras con mayor aceptación.

Variable	T1	Control	CV%	Pr> t
	Media ± D.E.	Media ± D.E.		
Acidez titulable	0.91 ± 0.06	3.15 ± 0.20	6.28	0.0009

Nota. ^{a b c d}: Medias con letras minúsculas diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P \leq 0.05$).

Pr>|t|: Probabilidad. Control: jugo de mora. T1: tratamiento 1, 75% lactosuero y 25% concentrado de mora. D.E.: Desviación Estándar. CV%: Coeficiente de Variación.

Viscosidad

La presencia de los β -glucanos teóricamente deberían aportar mayor viscosidad a los tratamientos que los contienen (Kwong et al. 2013). El tratamiento 1 fue el más viscoso, seguido del control, luego el tratamiento 2 y finalmente el tratamiento 3 fue el menos viscoso (Cuadro 13). Las muestras con mayor contenido de concentrado de mora, 25% en ambos casos, presentaron mayor viscosidad. Algunas razones para la diferencia de viscosidad entre las muestras pueden ser: el control no poseía β -glucanos, la temperatura fue diferente, la cantidad de sólidos solubles difirió entre muestras, por lo tanto, la asociación de moléculas fue distinta en las soluciones (Briones García et al. 2019).

Cuadro 13

Relación de viscosidad y rpm de la bebida funcional.

rpm	Viscosidad (mPa*s)			
	T1	T2	T3	Control
5	19.1	11.5	11.4	18.1
10	35.4	14.2	12.1	15.5
15	31.4	16.3	13.7	16.9
20	31.8	16.2	14.9	17.1
25	35.2	15.3	14.5	23.1
30	---	14.0	13.1	22.3
Media	30.6	14.6	13.3	19.0

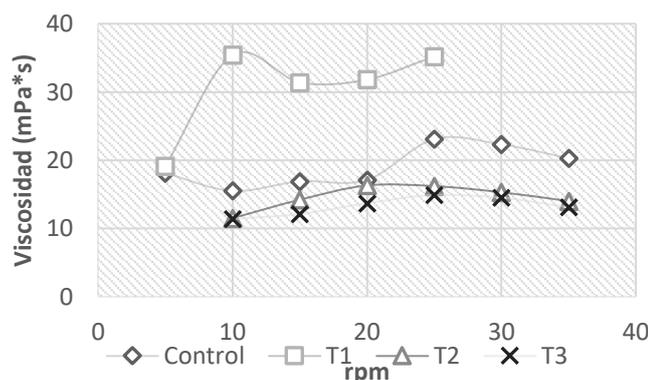
Nota. rpm: revoluciones por minuto. mPa*s: megapascales por segundo. Control: jugo de mora. T1: tratamiento 1, 75% lactosuero y 25% concentrado de mora. T2: tratamiento 2, 85% lactosuero y 15% concentrado de mora. T3: tratamiento 3, 90% lactosuero y 10% concentrado de mora.

Según la lectura realizada de viscosidad aplicando diferentes revoluciones por minuto, la viscosidad en todas las muestras se presenta como un fluido newtoniano (Figura 2) porque su

viscosidad permanece relativamente constante a pesar de que son forzados a fluir más rápido o más lento a través de un canal (Rohrig 2017). Así mismo, se ven algunas variaciones que pueden atribuirse a diferentes factores como temperatura, el flujo de aire dentro del cuarto en donde está colocado el viscosímetro o el tiempo en el que se realiza la lectura (Barreto Arteaga 2021).

Figura 2

Comportamiento de la muestra según su viscosidad.



Nota. Control: jugo de mora. T1: tratamiento 1, 75% lactosuero y 25% concentrado de mora. T2: tratamiento 2, 85% lactosuero y 15% concentrado de mora. T3: tratamiento 3, 90% lactosuero y 10% concentrado de mora.

Calidad Nutricional

Según el RTCA 67.01.60:10 (COMIECO 2010), una etiqueta nutricional es una manera de informar al consumidor sobre las propiedades nutricionales que ofrece un alimento. El lactosuero tiene un contenido bajo de grasa y colesterol, aporta dos tipos indispensables de proteína que son lactoglobulina y lactoalbúmina, es rica en minerales (Poveda E 2013). En adición, los β -glucanos son un tipo de fibra soluble que tiene la habilidad de reducir los niveles de azúcar en la sangre (Kim et al. 2006). De igual importancia, frutas como las moras aportan vitaminas, compuestos antioxidantes y fibra dietética que proveen una protección a las células, mejoran el sistema inmune y otros beneficios a la salud de quien las consume (Xu et al. 2022).

Las bebidas pueden llegar a ser una buena opción para aportar energía, facilitar procesos fisiológicos e incorporar el consumo de gran variedad de alimentos como frutas (Rivera Ruiz y Leon Lopez 2019). Tanto el control como el tratamiento 1 aportan menos de 100 kcal por porción (Cuadro

14), por lo cual, se considera una cantidad moderada de calorías por porción. La cantidad de calorías que aporta una porción de esta bebida es menos del 4% del total de calorías diarias que se deberían de consumir en base a una dieta de 2,000 calorías (Cuadro 14). Así mismo, los resultados obtenidos de los análisis químicos y teóricos se presentaron similares (Anexo B).

Cuadro 14

Calidad nutricional del control y tratamiento más aceptado por porción de 100 mL.

Nutriente	Control			T 1		
	Media ± D.E.	CV%	%VD	Media ± D.E.	CV%	%VD
Energía (kcal)	66.12	n/a	3	78.44	n/a	4
Proteína (g)	0.04 ± 0.00	1.40	0	0.65 ± 0.01	1.23	1
Grasa total (g)	0.06 ± 0.00	6.26	0	0.69 ± 0.06	8.45	1
Grasa saturada (g)	0.00 ± 0.00	0	0	0.31 ± 0.02	7.62	2
Colesterol (mg)	0	n/a	0	0	n/a	0
Carbohidratos (g)	16.37	n/a	5	17.41	n/a	6
Azúcar (g)	9.23 ± 0.54	5.84	18	11.17 ± 0.19	1.74	22
Fibra (g)	0.85 ± 0.11	9.21	3	1.91 ± 0.25	9.69	8
Sodio	8.00 ± 0.31	3.88	0.5	39.00 ± 0.64	1.64	2
Humedad	82.55 ± 1.03	1.25	n/a	78.90 ± 1.32	1.67	n/a
Cenizas	0.14 ± 0.01	9.71	n/a	0.44 ± 0.04	8.42	n/a

Nota. g: gramos. mg: miligramos. n/a: no aplica. Control: jugo de mora. T1: tratamiento 1, 75% lactosuero y 25% concentrado de mora. D.E.: Desviación Estándar. CV%: Coeficiente de Variación. %VD: Porcentaje de Valor Diario.

Desviación Estándar. CV%: Coeficiente de Variación. %VD: Porcentaje de Valor Diario.

Según el RTCA para etiquetado nutricional (COMIECO 2010), el tratamiento 1 puede considerarse como fortificado con fibra ya que cumple con contener más de 1.5 gramos por cada 100 mL. El control, al contener no más de 0.5 g de grasa y grasa saturada es considerado libre de estos nutrientes y al contener menos de 35 mg entra en la categoría de muy bajo en sodio. Además, el tratamiento 1 es considerado libre de colesterol y grasa saturada y bajo en sodio (<140 mg). El control y tratamiento 1 cumplen con la recomendación de la FAO et al. (2020), en donde menciona que se debe realizar una selección apropiada de alimentos restringiendo las grasas saturadas y controlando el consumo de sodio.

Así mismo, tal como lo menciona el anexo G del RTCA para etiquetado nutricional, se puede colocar una declaración en la que indique la cantidad de β -glucanos que aporta una porción de este producto. Handayani et al. (2012), examinaron el efecto de los β -glucanos provenientes de diferentes fuentes y concluyeron que los provenientes de hongos requerían menores dosis para tener el mismo

efecto que las otras fuentes, así también, atribuyeron este beneficio a la estructura química y peso molecular mayor. Calderon et al. (2022), recomiendan una dosis de 3.58 mg/kg de peso corporal en humanos para que los β -glucanos de hongos proporcionen mejores efectos para tratar la EHGNA. De esta manera, este estudio utilizó una dosis de 0.243 g en 100 mL de la bebida, por motivos anteriormente mencionados en la metodología.

Se realizó la comparación de la composición (Cuadro 15) nutricional de los datos obtenidos de las pruebas químicas (Cuadro 14) y productos en el mercado. Para ello, se utilizó la información nutricional de "MSHRM OAT REISHI VANILLA" por ser una bebida que contiene *Ganoderma lucidum* entre sus ingredientes y de "Lattella Classic Mango" que es una bebida austriaca a base de lactosuero dulce. Los ingredientes de los tres productos son diferentes por lo cual se entiende que la calidad nutricional varíe tanto. La bebida funcional con mayor aceptación en este estudio presentó mayor cantidad de calorías, carbohidratos disponibles y azúcar con respecto a los otros. también, la bebida de este estudio presenta mayor cantidad de fibra que se atribuye a la adición de β -glucanos y concentrado de mora.

Cuadro 15

Comparación de la calidad nutricional e ingredientes de la bebida funcional de este estudio y dos bebidas parecidas en el mercado por 100 mL.

Nutriente	T1	MO	LS
Energía (kcal)	80	60	37
Proteína (g)	<1	2	<1
Grasa total (g)	1	1	1
Grasa saturada (g)	0.5	0	0
Colesterol (g)	0	0	-
Carbohidratos disponibles (g)	18	10	9
Azúcar (g)	11	3	9
Fibra (g)	2	1	-
Sodio (mg)	40	5	90
Ingredientes	Lactosuero, concentrado de mora y β -glucanos.	Agua, avena orgánica, azúcar de caña orgánica, pectina, sabor natural de vainilla orgánica, reishi orgánico, cultivos vivos y activos	Lactosuero dulce, pure de mango, azúcar, regulador de acidez, citrato de sodio, ácido láctico, ácido ascórbico y saborizantes.

Nota. T1: tratamiento 1 del presente estudio. MO: Bebida comercial que contiene *Ganoderma lucidum* "MSHRM OAT REISHI VANILLA". LS: Bebida comercial de suero de leche "Lattella Classic Mango".

Descripción de Costos de Formulación

En el Cuadro 16 se puede observar un análisis de costos de formulación entre el tratamiento 1, lactosuero con concentrado de mora y β -glucanos, y control, jugo de mora. El precio para desarrollar el tratamiento 1 sería de 0.74 dólares por cada litro. La diferencia de precios se debe a la adición de β -glucanos en el tratamiento. Además, el uso de suero no supone un aumento de precio porque este es un coproducto que desecha la Planta de Lácteos de Zamorano.

Cuadro 16

Costos variables de formulación en dólares estadounidenses (USD).

Ingrediente	Costo unitario	T1	Control
		Costo para 1 L	
Lactosuero	0	0	-
Concentrado de mora Zamorano	2.02	0.51	0.51
β -glucanos	13.76	0.23	-
Total		0.74	0.51

Nota. 1 USD equivale a 24.75 lempiras. Control: jugo de mora. T1: tratamiento 1, 75% lactosuero y 25% concentrado de mora. Precio de los β -glucanos de NOW Supplements, Beta-Glucans with ImmunEnhancer™.

Conclusiones

El tratamiento con mejor aceptación fue el que contenía 75% de suero de leche, 25% de concentrado de mora y β -glucanos. El sabor y dulzura son los atributos sensoriales que más influyeron en la aceptación general de la bebida.

La adición de lactosuero afecta el valor de °Brix, pH, viscosidad y acidez. El concentrado de mora disminuyó la luminosidad de los tratamientos y aportó tonalidades rojas.

La adición de β -glucanos incrementó el contenido de fibra dietética. El tratamiento con 75% de lactosuero, 25% de concentrado de mora y β -glucanos, se considera fortificada en fibra, muy baja en sodio y libre de grasa saturada y colesterol.

Recomendaciones

Ampliar las evaluaciones fisicoquímicas tales como cuantificar la cantidad de antocianinas presentes y realizar un estudio de vida anaquel.

Incursionar en la elaboración de una bebida como la anteriormente propuesta por parte de La Planta de Lácteos de Zamorano para el aprovechamiento del suero de leche y evaluar otros sabores.

Probar la eficiencia de esta bebida en la población estudiantil de Zamorano para determinar los beneficios de su consumo.

Referencias

- [21CFR146.140] Code of Federal Regulations. 2022. 21CFR146.140: CANNED FRUIT JUICES. [sin lugar]: [sin editorial]. <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/cfrsearch.cfm?fr=146.140>.
- [21CFR184.1979] Code of Federal Regulations. 2022. 21CFR184.1979: Whey. [sin lugar]: [sin editorial]; [actualizado mayo 2022]. <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/cfrsearch.cfm?fr=184.1979>.
- Aguilera Méndez A. 2018. Esteatosis hepática no alcohólica: una enfermedad silente. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*; [consultado Noviembre, 2021]. 56(6):544–549. <https://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2018/im186g.pdf>.
- Alava Viteri C, Gómez de Illera M, Maya Pantoja JA. 2014. Caracterización fisicoquímica del suero dulce obtenido de la producción de queso casero en el municipio de Pasto. *Revista colombiana de investigaciones agroindustriales*. 1(1):22. doi:10.23850/24220582.110.
- Alayo Rojas A. 2017. Determinación de las características fisicoquímicas del suero obtenido de la fabricación de mantequilla de leche de vaca [Tesis]. Perú: Universidad Nacional de Trujillo. <https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/10008/ALAYO%20ROJAS%20ALFONSO.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Alimentos y bebidas procesados. Néctares de fruta. Especificaciones. RTCA. 67.04.48:08 (2008).
- Alvídrez Morales A, González Martínez BE, Jiménez Salas Z. 2002. Tendencias en la producción de alimentos; Alimentos Funcionales. *Revista de la Facultad de Salud Pública y Nutrición*; [consultado Octubre, 2021]. 3(3):1. <https://www.medigraphic.com/pdfs/revsalpubnut/spn-2002/spn023g.pdf>.
- Amador Villalba JM, Andreus González AA, Arredondo Mejía CA, Rendón Ceballos CA, Barrera Bello E, Jiménez Argumedo C. 2020. Estandarización de una bebida deslactosada a base de suero dulce de leche saborizado con pulpa de mora. *ESOA*. 5(1):33–44. doi:10.23850/26652447/5/1/2768.
- [ANMAT] Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica, [RENALOA] Red Nacional de Laboratorios Oficiales de Análisis de Alimentos. 2014. Análisis microbiológico de los alimentos. [sin lugar]. http://www.anmat.gov.ar/renaloa/docs/analisis_microbiologico_de_los_alimentos_vol_iii.pdf.
- Artica Mallqui L. 2014. Métodos para el análisis fisicoquímico de la leche y derivados lácteos. 2ª ed. Perú: TEIA. Ltd. ; [consultado Octubre, 2021]. <https://luisartica.files.wordpress.com/2011/11/metodos-de-analisis-de-leche-2014.pdf>.
- Barrera J, Moncayo I, Cruz D, Pinzón J, Gómez J, Moreno H. 2019. Caracterización fenotípica y organoléptica de mora (*Rubus spp*) cultivadas en el Área Metropolitana de Bucaramanga, Santander. España: Universidad Tecnológica De Santander. <http://repositorio.uts.edu.co/xmlui/bitstream/handle/123456789/1413/Art.Caracterizaci%C3%B3n%20fenot%C3%ADpica%20y%20organol%C3%A9ptica%20de%20la%20mora.pdf?sequence=1>.
- Barreto Arteaga AJ. 2021. Evaluación de diferentes dosis de lactosuero y pulpa liofilizada de Guayaba (*Psidium guajava*) en una bebida láctea fermentada funcional. Ecuador: Escuela Superior

- Politécnica Agropecuaria de Manabí; [consultado el 1 de jun. de 2022]. <http://190.15.136.145/bitstream/42000/1563/1/TTAI30D.pdf>.
- Bassi LG de, Ferreira GCC, Da Silva AS, Sivieri K, Aragon-Alegro LC, Costa MDR. 2012. Evaluation of physicochemical, microbiological and sensorial characteristics of fermented milk beverages with buttermilk addition. *International Journal of Dairy Technology*. 65(2):282–286. doi:10.1111/j.1471-0307.2011.00764.x.
- Benhaim Varela ME, Guma CL, Doglia Garcia LI, Canella VG, López Gargiul SV, Pengue Naccarella C. 2016. Estudio metabólico en pacientes con esteatosis hepática no alcohólica. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*; [consultado Noviembre, 2021]. 50(1):11–16. <https://www.redalyc.org/pdf/535/53546180004.pdf>.
- Berná G, Romero-Gomez M. 2020. The role of nutrition in non-alcoholic fatty liver disease: Pathophysiology and management. *Liver Int*. 40 Suppl 1:102–108. eng. doi:10.1111/liv.14360.
- Bray GA, Kim KK, Wilding JPH. 2017. Obesity: a chronic relapsing progressive disease process. A position statement of the World Obesity Federation. *Obes Rev*; [consultado Noviembre, 2021]. 18(7):715–723. eng. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/obr.12551>. doi:10.1111/obr.12551.
- Briones García JI, Vásquez Martínez KE, Villa Uvidia DN, Mejía Reinoso TJ. 2019. Modelo matemático de viscosidad de soluciones técnicas y puras durante el procesamiento del azúcar de remolacha. *Ciencia Digital*. 3(3.1):229–243. doi:10.33262/cienciadigital.v3i3.1.697.
- Calderon K, Hernandez A, Osorio LF, Lanza S. 2022. Enfermedad de hígado graso no alcohólico y potenciales efectos de los β -glucanos en su tratamiento: Una revisión de literatura. *Revista chilena de nutrición*. 49(1):100–107. doi:10.4067/S0717-75182022000100100.
- Campos Y. 2019. Formulación y elaboración de una bebida nutritiva a base de lactosuero con jugo de naranja (*Citrus sinensis*) [Tesis]. Perú; [consultado Mayo 2022]. <https://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14074/3031/FORMLACI%c3%93N%20Y%20ELABORACI%c3%93N%20DE%20UNA%20BEBIDA%20NUTRITIVA%20A%20BASE%20DE%20LACTOSUERO%20CON%20JUGO%20DE%20NARANJA%20%28Citru.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Carter BG, Foegeding EA, Drake MA. 2020. Invited review: Astringency in whey protein beverages. *J Dairy Sci*. 103(7):5793–5804. eng. doi:10.3168/jds.2020-18303.
- [CFR] Code of Federal Regulations. 2012. § 151.91 Brix values of unconcentrated natural fruit juices. AE 2.106/3:19/. USA: CFR. 2012; [actualizado 2012; consultado mayo 2022]. <https://www.ecfr.gov/current/title-19/chapter-I/part-151/subpart-G/section-151.91>.
- Chacón Gurrola LR, Chávez Martínez A, Rentería Monterrubio AL, Rodríguez Figueroa JC. 2017. Proteínas de lactosuero: usos, relación con la salud y bioactividades. *Interciencia*; [consultado Noviembre, 2021]. 42(11):712–718. <https://www.redalyc.org/pdf/339/33953499002.pdf>.
- Chandrakar V, Deshpande B, Pandey B. 2017. Physico-chemical evaluation of some non-alcoholic beverages. *Indian Journal of Scientific Research*; [consultado mayo 2022]. 12(2). <https://www.ijsr.in/upload/120680500420.pdf>.
- Choudhary Raghuvver T. 2009. Consumption of functional food and our health concerns. *Pakistan Journal of Physiology*; [consultado Enero, 2022]. 5(1). <http://www.pps.org.pk/PJP/5-1/Raghuvver.pdf>.

- FAO, FIDA, OPS, WFP, UNICEF. 2020. Panorama de la seguridad alimentaria y nutricional en América Latina y el Caribe 2020. [sin lugar]: FAO, OPS, WFP and UNICEF. ISBN: 978-92-5-133665-6.
- [FDA] United States Food and Drug Administration. 2001. BAM Chapter 18: Yeasts, Molds and Mycotoxins. [sin lugar]: United States Food and Drug Administration ; [consultado el 6 de abr. de 2022]. <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-18-yeasts-molds-and-mycotoxins>.
- Fernández Rodríguez C, Martínez Torres EJ, Morán Palao A, Gómez Barrios X. 2016. Procesos biológicos para el tratamiento de lactosuero con producción de biogás e hidrógeno. Revisión bibliográfica. *rev.ion*. 29(1):47–62. doi:10.18273/revion.v29n1-2016004.
- Gami S, Godwin G, Czymmek K, Ganoe K, Quirine K. 2016. Acid Whey pH and Nutrient Content. Cornell University Cooperative Extension. <http://nmsp.cals.cornell.edu/publications/factsheets/factsheet96.pdf>.
- Gavilanes López PI, Zambrano Zambrano ÁM, Romero Rosado CF, Moro Peña A. 2018. Evaluación de una bebida láctea fermentada novel a base de lactosuero y harina de camote. *Revista de Agrociencias*; [consultado el 17 de jun. de 2022]. (19). <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6544945>.
- Gómez Soto JA, Sánchez Toro ÓJ. 2019. Producción de galactooligosacáridos: alternativa para el aprovechamiento del lactosuero. Una revisión. *Ingeniería y Desarrollo*. 37(1):129–158. doi:10.14482/inde.37.1.637.
- Grande-Tovar C, Araujo Pabón L, Flórez López E, Aranaga Arias C. 2020. Determinación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de residuos de mora (*Rubus glaucus* Benth). *Informador Técnico*. 85(1):64–82. doi:10.23850/22565035.2932.
- Guerrero J, Ramírez A, Puente W. 2011. Caracterización del suero de queso blanco del combianado lácteo Santiago. *Tecnología Química*; [consultado Mayo 2022]. XXXI(3):93–100. <https://www.redalyc.org/pdf/4455/445543774010.pdf>.
- Guevara A. 2015. Elaboración de pulpa, zumos, nectares, deshidratados, osmodeshidratados y fruta confitada. [Tesis]. Peru: Universidad Nacional Agraria la Molina; [consultado Mayo 2022]. <http://www.lamolina.edu.pe/postgrado/pmdas/cursos/dpactl/lecturas/Separata%20Pulpas%20n%C3%A8ctares,%20merm%20desh,%20osmodes%20y%20fruta%20confitada.pdf>.
- Guía de alimentación para facilitadores de salud. (2015).
- Handayani D, Meyer BJ, Chen J, Tang P, Kwok PCL, Chan H-K, Huang X-F. 2012. The Comparison of the Effect of Oat and Shiitake Mushroom Powder to Prevent Body Weight Gain in Rats Fed High Fat Diet. *Food and Nutrition Sciences*. 03(07):1009–1019. doi:10.4236/fns.2012.37134.
- [ICMSF] International Commission on Microbiological Specifications for Foods. 2011. *Microorganisms in Foods 8*. Boston, MA: Springer US. ISBN: 978-1-4419-9373-1.
- [INCAP] Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá. 2018. *Tabla de Composición de Alimentos de Centroamérica*.
- Instituto Nacional Sobre el Envejecimiento. 2017. Comer saludablemente después de los 50 años. [sin lugar]: [sin editorial]; [actualizado el 17 de jun. de 2022]. <https://www.nia.nih.gov/espanol/comer-saludablemente-despues-50-anos>.

- Jin Q, Kirk MF. 2018. pH as a Primary Control in Environmental Microbiology: 1. Thermodynamic Perspective. *Frontiers in Environmental Science*. 6. doi:10.3389/fenvs.2018.00021.
- Jung S, Son H, Hwang CE, Cho KM, Park SW, Kim HJ. 2018. *Ganoderma lucidum* Ameliorates Non-Alcoholic Steatosis by Upregulating Energy Metabolizing Enzymes in the Liver. *J Clin Med*. 7(6). eng. doi:10.3390/jcm7060152.
- Kaur R, Sharma M, Ji D, Xu M, Agyei D. 2020. Structural Features, Modification, and Functionalities of Beta-Glucan. *Fibers*. 8(1):1. <https://www.mdpi.com/2079-6439/8/1/1/htm>. doi:10.3390/fib8010001.
- Khoo HE, Azlan A, Tang ST, Lim SM. 2017. Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food Nutr Res*. 61(1):1361779. eng. doi:10.1080/16546628.2017.1361779.
- Kim SY, Song HJ, Lee YY, Cho K-H, Roh YK. 2006. Biomedical issues of dietary fiber beta-glucan. *J Korean Med Sci*. 21(5):781–789. eng. <https://synapse.koreamed.org/articles/1020298>. doi:10.3346/jkms.2006.21.5.781.
- Kumar A, Gowda LR. 2014. Food Additives: Liquid Chromatography. En: Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering. [sin lugar]: Elsevier.
- Kwong MGY, Wolever TMS, Brummer Y, Tosh SM. 2013. Increasing the viscosity of oat β -glucan beverages by reducing solution volume does not reduce glycaemic responses. *Br J Nutr*. 110(8):1465–1471. eng. doi:10.1017/S000711451300069X.
- Lawless HT, Heymann H. 2010. *Sensory Evaluation of Food*. New York, NY: Springer New York. ISBN: 978-1-4419-6487-8.
- Liria M. 2017. “Guía para la Evaluación Sensorial de Alimentos. Perú: Instituto de Investigación Nutricional; [consultado Mayo 2022]. <https://lac.harvestplus.org/wp-content/uploads/2008/02/Guia-para-la-evaluacion-sensorial-de-alimentos.pdf>.
- Liria Domínguez MR. 2007. *Guía para la Evaluación Sensorial de Alimentos*. AgroSalud. Lima: Instituto de Investigación Nutricional; [consultado Noviembre, 2021]. <https://lac.harvestplus.org/wp-content/uploads/2008/02/Guia-para-la-evaluacion-sensorial-de-alimentos.pdf>.
- Lopez S, Galeano F, Triana D. 2016. Efecto de la presión sobre los parámetros de calidad (color-textura) de chips de plátano verde durante la fritura por inmersión. *Vitae Supplement 1*; [consultado el 2 de abr. de 2022]. 23. <https://www.proquest.com/docview/1783661125?fromopenview=true&pq-origsite=gscholar>.
- Low YQ, Lacy K, Keast R. 2014. The role of sweet taste in satiation and satiety. *Nutrients*. 6(9):3431–3450. eng. doi:10.3390/nu6093431.
- Martin NH, Trmčić A, Hsieh T-H, Boor KJ, Wiedmann M. 2016. The evolving role of coliforms as indicators of unhygienic processing conditions in dairy foods. *Front Microbiol*; [consultado el 3 de jun. de 2022]. 7:1549. eng. doi:10.3389/fmicb.2016.01549.
- Martínez Ramos SE. 2021. *Evaluación cronobiológica en estudiantes de la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano y su relación con el rendimiento académico [Tesis]*. Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano; [consultado junio 2022]. <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/0ecf18ef-3ac8-42ca-82a2-5126df214089/content>.

- Mathias-Rettig K, Ah-Hen K. 2014. El color en los alimentos un criterio de calidad medible. *agrosur*. 42(2):57–66. doi:10.4206/agrosur.2014.v42n2-07.
- Mazorra-Manzano MÁ, Moreno-Hernández JM. 2019. Propiedades y opciones para valorizar el lactosuero de la quesería artesanal. *CienciaUAT*. 14(1):133. doi:10.29059/cienciauat.v14i1.1134.
- McGlynn W. 2016. The Importance of Food pH in Commercial Canning Operations [FAPC-118]. USA: Oklahoma State University; [consultado mayo 2022]. <https://extension.okstate.edu/factsheets/the-importance-of-food-ph-in-commercial-canning-operations.html>.
- Mehmood A, Zhao L, Wang Y, Pan F, Hao S, Zhang H, Iftikhar A, Usman M. 2021. Dietary anthocyanins as potential natural modulators for the prevention and treatment of non-alcoholic fatty liver disease: A comprehensive review. *Food Res Int*. 142:110180. eng. doi:10.1016/j.foodres.2021.110180.
- Melton LD, Shahidi F, Varelis P, editores. 2019. *Encyclopedia of food chemistry*. Amsterdam, Netherlands, Oxford, United Kingdom, Cambridge, MA: Elsevier. 220 p. ISBN: 978-0-12-814045-1.
- Mendoza García AB. 2021. Efecto de los aditivos E415 y E466 sobre la estabilidad de la fibra del zumo de mora (*Rubus glaucus*) edulcorado con caña de azúcar (*Saccharum officinarum*). [Tesis]. Ecuador: Universidad Técnica Estatal de Quevedo; [consultado Mayo 2022]. <https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/6454/1/T-UTEQ-121.pdf>.
- Meneses Moreno D, Negrin Rangel E. 2017. Esteatosis hepática no alcohólica: relación con la circunferencia de cintura. *Revista Gen*; [consultado Octubre, 2021]. 71(2). http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0016-35032017000200005.
- Molina D, Romano A. 2019. Desarrollo de un té funcional y su efecto en parámetros antropométricos y bioquímicos en empleados de Zamorano [Tesis]. Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano; [consultado noviembre, 2021]. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6577/1/AGI-2019-T040.pdf>.
- Montoya LMA, Alcaraz PAV. 2016. Preferencias alimentarias en los hogares de la ciudad de Medellín, Colombia. *Saúde e Sociedade*. 25(3):750–759. doi:10.1590/S0104-12902016149242.
- Muñoz I, Sevilla M, García F, García J, Sanchez L. 2017. Bebidas edulcorantes y su riesgo para la salud. *BMC Complement Altern Med*; [consultado Mayo 2022]. (117). <https://contactos.izt.uam.mx/index.php/contactos/article/view/71/58>.
- Muñoz J, Cabrera C, Alcívar A, Castro M, Zambrano E. 2019. Use of whey in the development of a milk beverage flavored with chocolate powder: sensory and bromatological properties. *Agroind*. 9(2):199–204. doi:10.17268/agroind.sci.2019.02.13.
- Muñoz Mendoza GM. 2019. Bebida fermentada a base de lactosuero y soya (*Glycine max*) inoculada con mucílago de cacao nacional (*Theobroma cacao* L.). Ecuador: Universidad Técnica Estatal de Quevedo; [consultado Noviembre, 2021]. <https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/3805/1/T-UTEQ-0065.pdf>.
- Norma Sanitaria Peruana. 2008. Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano: Dirección General de Salud Ambiental. 071ª ed. Perú: [sin editorial]. 2008; [actualizado 2008; consultado mayo

- 2022]. https://www.saludarequipa.gob.pe/desa/archivos/Normas_Legales/alimentos/RM591MINSANORMA.pdf.
- OMS. 2003. Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas. Suiza: OMS (Organización Mundial de la Salud). 181 p. (Serie de Informes Técnicos; vol. 916). ISBN: 92-4-320916-7.
- [OPS] Organización Panamericana de la Salud. 2015. Peligros biológicos. [sin lugar]: Organización Panamericana de la Salud ; [consultado el 2 de abr. de 2022]. https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10838:2015-peligros-biologicos&Itemid=41432&lang=es.
- Paredes Montoya P, Chávez Martínez A, Rodríguez Figueroa JC, Aguilar Palma N, Rentería Monterrubio AL, Rodríguez Hernández G. 2014. Características fisicoquímicas y microbiológicas de suero de leche de queso Chihuahua. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*; [consultado el 17 de jun. de 2022]. 22(62: 11-16):11–16. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=67432507002>.
- Parra Huertas RA. 2009. Lactosuero: importancia en la industria de alimentos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía - Medellín*; [consultado Diciembre, 2021]. 62(1):4967-4982. <https://www.redalyc.org/pdf/1799/179915377021.pdf>.
- Pilacúan Hernández SD. 2021. Elaboración de una bebida fermentada con probióticos a partir de lactosuero dulce saborizado con pulpa de mora (*Rubus glaucus*) [Trabajo de titulación previa la obtención del título de Ingeniera en Alimentos]. Ecuador: Universidad Politécnica Estatal del Carchi; [consultado el 17 de jun. de 2022]. <http://repositorio.upec.edu.ec/bitstream/123456789/1315/1/053-%20PILACU%c3%81N%20HERN%c3%81NDEZ%20SHIRLEY%20DAY%c3%81N.pdf>.
- Pizarro C S, Ronco M AM, Gotteland R M. 2014. β -glucanos: ¿qué tipos existen y cuáles son sus beneficios en la salud? *Revista chilena de nutrición*. 41(4):439–446. https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182014000400014&lng=es&nrm=iso&tlng=es. doi:10.4067/S0717-75182014000400014.
- Posada K, Terán DM, Ramírez Navas JS. 2021. Empleo de lactosuero y sus componentes en la elaboración de postres y productos de confitería. *La Alimentación Latinoamericana* N° 292; [consultado Noviembre, 2021]. 66 - 75. <http://www.publitem.com.ar/contenido/objetos/Lactosuero.pdf>.
- Poveda E E. 2013. Suero lácteo, generalidades y potencial uso como fuente de calcio de alta biodisponibilidad. *Rev. chil. nutr.* 40(4):397–403. doi:10.4067/S0717-75182013000400011.
- Powell EE, Wong VW-S, Rinella M. 2021. Non-alcoholic fatty liver disease. *The Lancet*. 397(10290):2212–2224. doi:10.1016/s0140-6736(20)32511-3.
- Przybyszewski EM, Targher G, Roden M, Corey KE. 2021. Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Cardiovascular Disease. *Clin Liver Dis (Hoboken)*. 17(1):19–22. eng. doi:10.1002/cld.1017.
- Rasheed HU, Nawaz H, Rehman R, Mushtaq A, Rashid U. 2017. The Blackberry: A Review on its Composition and Chemistry, Uses and Bioavailability and Potential Health Benefits. *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences*; [consultado Mayo 2022]. IJCBS, 11:11120–11128. <http://www.iscientific.org/wp-content/uploads/2019/10/14-IJCBS-17-11-14.pdf>.

- Rebello CJ, Chu Y-F, Johnson WD, Martin CK, Han H, Bordenave N, Shi Y, O'Shea M, Greenway FL. 2014. The role of meal viscosity and oat β -glucan characteristics in human appetite control: a randomized crossover trial. *Nutr J.* 13:49. eng. doi:10.1186/1475-2891-13-49.
- Reglamento Técnico Centroamericano. Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos. RTCA (2009).
- Reglametno Técnico Centroamericano. Etiquetado nutricional de productos alimenticios preenvasados para consumo humano para la población a partir de 3 años de edad. RTCA (2010).
- Ren S, Jiménez-Flores R, Giusti MM. 2021. The interactions between anthocyanin and whey protein: A review. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 20(6):5992–6011. eng. doi:10.1111/1541-4337.12854.
- Rivera Ruiz M, Leon Lopez LP. 2019. Variables que influyen en el consumo de bebidas saludables innovadoras en Hermosillo, Sonora, México. *Revista Vértice Universitario.* doi:10.36792/rvu.vi83.17.
- Robles D. 2016. Estudio de concentración de jugo de mora mediante evaporación osmótica a nivel de planta piloto [Tesis]. Costa Rica: Universidad de Costa Rica; [consultado Abril 2022]. <http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr/jspui/bitstream/123456789/3615/1/39729.pdf>.
- Rodoni L, Massolo F, Badin E, Rossi Y, Moroni F, Vicente A, Lespinard A. 2017. Efecto del tratamiento térmico sobre el color y contenido de antocianinas en jugos de zarzamora y frambuesa [Objeto de conferencia]. Panamá: Universidad Nacional de Entre Ríos. 197-206; [consultado Mayo 2022]. http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/79789/Documento_completo.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
- Rohrig B. 2017. La maravilla paa reducir impactos. *ChemMatters.* <https://www.acs.org/content/dam/acsorg/education/resources/highschool/chemmatters/spanishtranslations/cm-feb2017-d3o-spanish-trans.pdf>.
- Ruilova Carrión CE, León Arbulú DC, Tay Chu Jon LY. 2018. Potencial erosivo de jugos naturales, jugos industrializados y gaseosas. *Revisión de Literatura. Rev Estomatol Herediana.* 28(1):56. doi:10.20453/reh.v28i1.3283.
- Sahuquillo Martínez A, Solera Albero J, Rodríguez Montes JA, Celada Rodríguez A, Tarraga Marcos L, Tarraga López P. 2016. Esteatosis hepática no alcohólica y factores de riesgo cardiovascular en atención primaria. *Revista Colombiana de Gastroenterología;* [consultado Diciembre, 2021]. 31(4):368–375. <https://www.redalyc.org/pdf/3377/337749741007.pdf>.
- Sancho J, Bota E, Castro J. 1999. *Introducción al análisis sensorial de los alimentos.* Barcelona: 1. ISBN: 84-8338-052-8.
- Severiano-Pérez P. 2019. ¿Qué es y cómo se utiliza la evaluación sensorial? *INTERdisciplina;* [consultado el 17 de jun. de 2022]. 7(19):47. doi:10.22201/ceiich.24485705e.2019.19.70287.
- Silveira Rodríguez MB, Monereo Megías S, Molina Baena B. 2003. Alimentos funcionales y nutrición óptima. ¿Cerca o lejos? *Rev. Esp. Salud Publica;* [consultado Enero, 2022]. 77(3). https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1135-57272003000300003.
- Sima P, Vannucci L, Vetvicka V. 2018. β -glucans and cholesterol (Review). *Int J Mol Med.* 41(4):1799–1808. eng. doi:10.3892/ijmm.2018.3411.

- Sloan E. 2022. Top 10 Functional Food Trends. [sin lugar]: IFT; [consultado el 17 de jun. de 2022]. <https://www.ift.org/news-and-publications/food-technology-magazine/issues/2022/april/features/top-10-functional-food-trends>.
- Solórzano A, Martín A, Salazar S, Sondoval J, Kirschbaum D. 2015. Correlación entre la medida del color del fruto y la concentración de sólidos solubles totales en frutilla o fresa (*Fragaria ananassa* Duch.). *Revista agronómica del noroeste argentino*. 35(1). http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2314-369X2015000100008&lng=es&nrm=iso&tlng=es.
- Subroto E, Lembong E, Filianty F, Indiartho R, Primalia G, Kirana Zaenal Putr MS, Theodora HC, Junar S. 2020. The analysis techniques of amino acid and protein in food and agricultural products. *Journal of scientific and technology research*; [consultado el 6 de abr. de 2022]. 9. <https://www.ijstr.org/final-print/oct2020/The-Analysis-Techniques-Of-Amino-Acid-And-Protein-In-Food-And-Agricultural-Products.pdf>.
- Tonconi Limachi RE. 2020. Características Nutricionales de Una Bebida Láctea Formulada Con Tres Porcentajes de Suero de Leche En Viacha. Bolivia: Universidad Mayor De San Andrés, La Paz; [consultado el 17 de jun. de 2022]. <https://repositorio.umsa.bo/handle/123456789/23798>.
- Tovar Zevallos OX. 2018. Comparación in vitro del pH, contenido de azúcar y acidez titulable (ácido cítrico) de bebidas endulzadas consumidas por niños en etapa escolar. [sin lugar]: [sin editorial].
- Turkmen N, Akal C, Özer B. 2019. Probiotic dairy-based beverages: A review. *Journal of Functional Foods*. 53:62–75. doi:10.1016/j.jff.2018.12.004.
- U.S. Food & Drug Administration. 2011. GRAS Notice (Mushroom beta glucan) 000413: FDA. United States: EAS Consulting Group, LLC ; [consultado Noviembre, 2021]. <https://fliphtml5.com/qkmi/dkfn/basic>.
- [UPAEP] Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla. 2014. Análisis sensorial. 1ª ed. México; [consultado Mayo 2022]. https://investigacion.upaep.mx/micrositios/assets/analisis-sensorial_final.pdf.
- Videla LA, Obregón AM, Pettinelli P. 2011. Patología de hígado graso no-alcohólico (HGNA) asociada a obesidad: mecanismos patogénicos. *Medwave*. 11(07). <https://www.medwave.cl/link.cgi/Medwave/Revisiones/RevisionClinica/5068>. doi:10.5867/medwave.2011.07.5068.
- Vivas Y, Morales A, Otalvaro A. 2016. Aprovechamiento de lactosuero para el desarrollo de una bebida refrescante con antioxidantes naturales. *Revista Alimentos Hoy*; [consultado el 17 de jun. de 2022]. 24(39). <https://alimentos hoy.acta.org.co/index.php/hoy/article/view/415/344>.
- Wang Y, Ames NP, Tun HM, Tosh SM, Jones PJ, Khafipour E. 2016. High Molecular Weight Barley β -Glucan Alters Gut Microbiota Toward Reduced Cardiovascular Disease Risk. *Front Microbiol*. 7:129. eng. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2016.00129/full>. doi:10.3389/fmicb.2016.00129.
- Wong C. 2022. What Are Anthocyanins? Very Well Health; [consultado mayo 2022]. <https://www.verywellhealth.com/the-scoop-on-anthocyanins-89522>.
- Wu Y-S, Ho S-Y, Nan F-H, Chen S-N. 2016. Ganoderma lucidum beta 1,3/1,6 glucan as an immunomodulator in inflammation induced by a high-cholesterol diet. *BMC Complement Altern Med*. 16(1):500. eng. doi:10.1186/s12906-016-1476-3.

Xu T, Yin Y, Samtani J. 2022. Blackberry Fruit: Nutrition Facts and Health Benefits [Article]. USA: Virginia State University; [consultado mayo 2022]. https://www.pubs.ext.vt.edu/content/dam/pubs_ext_vt_edu/spes/spes-366/SPES-366P.pdf.

Younossi Z, Anstee Q, Marietti M, Hardy T, Henry L, Eslam M, George J, Bugianesi E. 2017. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*; [consultado Noviembre, 2021]. 15:11–20. <https://www.nature.com/articles/nrgastro.2017.109?report=reader>.

Anexos

Anexo A

Boleta de evaluación sensorial para bebida de mora y lactosuero

Boleta de evaluación bebida de mora y lactosuero								
Fecha: _____		Sexo: _____		Edad: _____				
<p>Prueba de aceptación: antes de iniciar por favor limpie su paladar tomando un trago de agua. Frente a usted se presentan cuatro muestras de una bebida de mora y lactosuero, por favor, evalúe yendo de izquierda a derecha. Indique el grado en que le gusta o disgusta cada atributo de cada muestra, de acuerdo con la siguiente escala hedónica:</p>								
Puntaje	1	2	3	4	5	6	7	
Categoría	Me desagrada extremadamente	Me desagrada	Me desagrada un poco	No me desagrada, ni me agrada	Me gusta un poco	Me gusta	Me gusta extremadamente	
Por favor coloque el puntaje debajo del atributo según corresponda.								
Número de muestra	Atributos							
	Color	Olor	Apariencia	Sabor	Viscosidad	Acidez	Dulzura	Aceptación general
Comentarios: _____								
<p>Prueba de preferencia: ordenen por preferencia, de la muestra de mayor preferencia a la muestra de menor preferencia. Escribir el número de muestra según el que más le gusta hasta el que menos le gusta.</p>								
1.	_____ (más preferida)							
2.	_____							
3.	_____							
4.	_____ (menos preferida)							
Comentarios: _____								

Anexo B

Comparación de composición nutricional en 100 ml.

Nutriente	Control		T1	
	A	B	A	B
Energía (kcal)	70	70	80	80
Proteína (g)	<1	<1	<1	<1
Grasa total (g)	0.5	0.5	1	0.5
Grasa saturada (g)	0	0	0.5	0.5
Colesterol (g)	0	0	0	0
Carbohidratos disponibles (g)	16	17	18	20
Azúcar (g)	9	n/a	11	n/a
Fibra (g)	<1	n/a	2	n/a
Sodio (mg)	10	n/a	40	n/a

Nota. Sección "A" corresponde los valores obtenidos por análisis químico. La sección "B" indica los valores presentados en las Tablas de Composición de Alimentos de Centroamérica según el INCAP (2018). Ambas categorías fueron aproximadas según el RTCA 67.01.60:10. "n/a" significa no aplica, porque no se cuentan con estos datos. Control: jugo de mora. T1: tratamiento 1, 75% lactosuero y 25% concentrado de mora. g: gramos.