



**UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
CARRERA DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL**

**PROYECTO DE TESIS PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO
DE INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

TEMA:

Determinación de la actividad antioxidante del vinagre obtenido a base de kombucha (*Manchurian fungus*) con o sin especias (*Rosmarinus officinalis* y *Thymus*).

AUTORES:

CRISTHIAN ANDRES MOREIRA LEONES

LUIS FELIPE ZAMBRANO CHAVÉZ

MANTA

2019

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaran que han aprobado la tesis "Determinación de la actividad antioxidante del vinagre obtenido a base de kombucha (*Manchurian fungus*) con o sin especias (*Rosmarinus officinalis* y *Thymus*)", que ha sido propuesta, desarrollada y sustentada por Cristhian Andrés Moreira Leones y Zambrano Chávez Luis Felipe, previa la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial, de acuerdo al reglamento para la elaboración de tesis de grado de tercer nivel de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí.



Ing. Edison Lavayen



Ing. Sayonara Reyna



Ing. Mirabella Lucas

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

Ing. María Isabel Mantuano Cusme certifica haber tutelado “Determinación de la actividad antioxidante del vinagre obtenido a base de kombucha (*Manchurian fungus*) con o sin especias (*Rosmarinus officinalis* y *Thymus*).”, que ha sido desarrollada por Cristhian Andrés Moreira Leones y Zambrano Chávez Luis Felipe, previa la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial, de acuerdo al reglamento para la elaboración de tesis de grado de tercer nivel de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí.



Ing. María Isabel Mantuano Cusme

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

Cristhian Andrés Moreira Leones y Luis Felipe Zambrano Chávez, egresados de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí Facultad de Ciencias Agropecuaria de la carrera Ingeniería Agroindustrial, libre y voluntariamente declaramos que la responsabilidad del contenido de la presente tesis titulada "Determinación de la actividad antioxidante del vinagre obtenido a base de kombucha (Manchurian fungus) con o sin especias (Rosmarinus officinalis y Thymus)". Nos corresponde exclusivamente y la propiedad intelectual de la misma pertenece a la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí"



Cristhian Andrés Moreira Leones

CI: 131282959-9



Luis Felipe Zambrano Chávez

CI: 131461989-9

AGRADECIMIENTO DEL ESTUDIANTE

Agradezco a Dios porque me ha ayudado en cada etapa desde el inicio hasta ahora, me ha dado la vida y me ha permitido llegar hasta este punto importante en mi vida estudiantil y me ha prometido que El estaría conmigo si yo me esfuerzo (Josué 1:9)

Le agradezco a Dios además por mis padres Felipe Zambrano Vélez y Janeth Chávez Rivera los cuales se han esforzado y sacrificado día tras día para darme las mejores oportunidades de superación desde pequeño, sin importar las dificultades cansancio físico y obstáculos que diariamente se presentaron demostrándome así su amor

A mis hermanos porque en cada paso que hemos dado nos hemos mantenido juntos, ayudándonos en lo posible, a los miembros y jóvenes de la iglesia Getsemaní quien con su apoyo espiritual me guiaron y me enseñaron a confiar en Dios ya que de esa manera todas las cosas marcharían bien, agradezco a mi novia Wendy por su apoyo moral y emocional el cual ha sido muy importante para hacer las cosas bien y de una manera ordenada

Y de una manera especial agradezco a mi tutora Ing., María Isabel Mantuano Cúsme quien con enorme paciencia nos brindó su ayuda necesaria y oportuna en cada etapa de nuestra carrera universitaria y de este trabajo, además a la Ing. Sayonara Reyna quien siempre estuvo presta a ayudarnos, brindándonos y compartiendo sus conocimientos los cuales fueron realmente útiles y necesarios para el desarrollo y éxito de esta investigación.

Luis Felipe Zambrano

AGRADECIMIENTO DEL ESTUDIANTE

Agradezco en primer lugar a Dios, por ser mi guía y por bendecirme con dones maravillosos que me han permitido cumplir este gran anhelo en mi vida, por ser mi fortaleza en momentos desafiantes y la paz para permanecer tranquilo y seguro en mis convicciones.

A mis padres Marcia Leones Puertas y Ulbino Moreira Ibarra, que han sido mi pilar fundamental para alcanzar este objetivo, por sus sacrificios, consejos y amor duradero, destacando la ardua tarea para lograr hacer de mi un hombre de bien.

También debo agradecer a los docentes de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, de forma puntual a la tutora de tesis Ingeniera María Isabel Mantuano Cusme, por la orientación, y disposición de su estimable tiempo. A la Ingeniera Sayonara Reyna Arias y a la señorita Ana Alvia Santana por el aporte de la información proporcionada, siendo muy apreciable la ayuda de cada uno de ellos en mi formación profesional, como también personal, a través de la difusión de conocimientos y experiencias, con las que me ayudaron a enriquecer mi vida y las que me han preparado para enfrentar el mundo profesional.

Y finalmente agradezco a mi familia en general, que fueron de gran apoyo durante mis años de estudios universitarios, ya que, gracias a sus consejos y respaldo, han aportado a mis ganas de seguir adelante, concluyendo así etapa de mi vida.

Cristhian Moreira

DEDICATORIA DEL ESTUDIANTE

Quiero dedicar este trabajo de investigación a Dios por su amor incomparable jamás me ha faltado a mi familia, mis hermanos Stephanie y Moisés y en especial a mis padres que siempre han sido un pilar fundamental en mi vida, gracias a su apoyo y esfuerzo ahora pueden ver culminado mi meta de ser un profesional.

Luis Felipe Zambrano

DEDICATORIA DEL ESTUDIANTE

A mi Padre Celestial por guiarme, protegerme y bendecirme cada paso que me propongo.

A mis padres Marcia Leones Puertas y Ulbino Moreira Ibarra, por sus sacrificios, consejos y apoyo emocional, que me brindaron durante cada momento de mi carrera, entregándome su amor incondicional e impulsándome día tras día a ser un hombre de bien.

A mis hermosas hermanas Angie y Andrea, y a la reina de mi corazón mi abuela Bernardita Puertas, que son mi alegría e inspiración para continuar hacia adelante en momentos difíciles y por quienes cada esfuerzo y sacrificio se convierte en una acción de amor.

A la universidad y al cuerpo docente por sus conocimientos brindados a mí y a mis compañeros de clases y todos aquellos que participaron directamente e indirectamente en la elaboración de este trabajo.

Cristhian Moreira

INDICE

| | | |
|---------|---|----|
| I. | MARCO TEÓRICO | 15 |
| 1.1. | Actividad Antioxidante | 15 |
| 1.1.1 | Métodos utilizados para determinar la actividad antioxidante..... | 16 |
| 1.1.1.1 | Frap | 16 |
| 1.1.1.2 | Dpph..... | 16 |
| 1.1.1.3 | Abts | 16 |
| 1.1.2. | Compuestos polifenólicos..... | 17 |
| 1.2. | Vinagre | 17 |
| 1.2.1 | Clases de vinagres | 17 |
| 1.2.1.1 | Vinagre blanco destilado | 18 |
| 1.2.1.2 | Vinagre de frutas: | 18 |
| 1.2.1.3 | Vinagre de sidra | 18 |
| 1.2.1.4 | Vinagre de vino o de uva | 18 |
| 1.2.1.5 | Vinagre de malta | 18 |
| 1.2.1.6 | Vinagre de azúcar de granos:..... | 18 |
| 1.2.1.7 | Vinagre de arroz | 19 |
| 1.4 | Espicias..... | 20 |
| 1.4.1 | Tomillo | 20 |
| 1.4.2 | Romero..... | 20 |
| 1.5 | Análisis sensorial..... | 21 |
| 1.5.1 | Análisis sensorial del vinagre | 21 |
| II. | PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA..... | 22 |
| III. | JUSTIFICACIÓN | 23 |
| IV. | HIPOTESIS | 25 |
| V. | OBJETIVOS | 26 |
| 5.1. | Objetivo general | 26 |
| 5.2 | Objetivos específicos..... | 26 |
| VI. | METODOLOGIA..... | 27 |
| 6.1 | Tipo de diseño | 27 |
| 6.2 | Análisis estadístico | 27 |
| 6.3 | Tratamientos..... | 28 |

| | | |
|--------------|---|----|
| 6.4 | Metodología para la obtención del vinagre de kombucha | 29 |
| 6.5 | Diagrama de flujo de elaboración de vinagre a base de té de kombucha (Manchurian fungus). | 30 |
| 6.5.1 | Descripción del diagrama de flujo | 31 |
| 6.5.2 | Metodología de análisis | 32 |
| 6.5.3 | Actividad antioxidante | 32 |
| 6.5.4 | Análisis microbiológico | 33 |
| 6.5.5 | Análisis sensorial (aceptabilidad)..... | 33 |
| VII. | RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 36 |
| 7.1 | Análisis de grados brix..... | 36 |
| 7.2 | Resultados análisis de pH | 38 |
| 7.3 | Resultados análisis de acidez (Acidez total % m/v) | 40 |
| 7.4 | Resultados análisis de alcohol..... | 42 |
| | (Alcohol etílico a 20 C % v/v)..... | 42 |
| 7.5 | Resultados recuento de aerobios mesófilos y mohos y levaduras .. | 44 |
| 7.6 | Resultados análisis de actividad antioxidante | 46 |
| | (Concentración en M/ml) | 46 |
| 7.7 | Resultados análisis sensorial en muestras con diferencia significativa en actividad antioxidante | 48 |
| 7.8 | Resultados comparación actividad antioxidante entre vinagres de kombucha y vinagres comercializados en la ciudad de Manta | 54 |
| | (Concentración en M/ml)..... | 54 |
| VIII. | CONCLUSIONES | 55 |
| IX. | RECOMENDACIONES | 57 |
| X. | BIBLIOGRAFIA | 58 |
| XI. | ANEXOS | 62 |

INDICE DE TABLAS

| | |
|--|----|
| TABLA N. 1 Análisis varianza (grados brix, 15 días) | 37 |
| TABLA N. 2 Análisis varianza (grados brix, 25 días) | 37 |
| TABLA N. 3 . Análisis varianza (grados brix, 35 días) ° | 38 |
| TABLA N. 4 Análisis varianza (valores de PH, 15 días)..... | 39 |
| TABLA N. 5 Análisis varianza (valores de PH, 25 días)..... | 39 |
| TABLA N. 6 . Análisis varianza (valores de PH, 35 días)..... | 40 |
| TABLA N. 7 Análisis varianza (valores de acidez, 15 días) | 41 |
| TABLA N. 8 Análisis varianza (valores de acidez, 25 días) | 41 |
| TABLA N. 9 Análisis varianza (valores de acidez, 35 días) | 42 |
| TABLA N. 10 Análisis varianza (% de alcohol, 15 días)..... | 43 |
| TABLA N. 11 Análisis varianza (% de alcohol, 25 días)..... | 43 |
| TABLA N.12 Análisis varianza (% de alcohol, 35 días)..... | 44 |
| TABLA N. 13 Resultados de análisis microbiológicos Aerobios Mesófilos y Mohos y levaduras (15 DIAS)..... | 45 |
| TABLA N. 14 Análisis varianza (actividad antioxidante, 15 días)..... | 47 |
| TABLA N. 15 Análisis varianza (actividad antioxidante,25 días) | 47 |
| TABLA N. 16 Análisis varianza (actividad antioxidante, 35 días)..... | 48 |
| TABLA N. 17 Comparación de actividad antioxidante: vinagres de kombucha | 54 |

ÍNDICE DE GRAFICOS

| | |
|---|-----------|
| GRAFICO N. 1; interpretación de los resultados de análisis sensorial de vinagre de kombucha, PARÁMETRO: COLOR..... | 49 |
| GRAFICO N. 2 interpretación de los resultados de análisis sensorial de vinagre de kombucha, PARÁMETRO: OLOR..... | 50 |
| GRAFICO N. 3 interpretación de los resultados de análisis sensorial de vinagre de kombucha, PARÁMETRO: SABOR..... | 51 |
| GRAFICO N. 4 interpretación de los resultados de análisis sensorial de vinagre de kombucha, PARÁMETRO: ACIDEZ | 52 |
| GRAFICO N. 5 interpretación de los resultados de análisis sensorial de vinagre de kombucha, PARÁMETRO: APARIENCIA GENERAL..... | 53 |

RESUMEN

El Objetivo de esta investigación es determinar el potencial antioxidante del vinagre obtenido a base de kombucha (*Manchuriam fungus*) con o sin especias (*Rosmarinus officinalis* y *Thymus*), el cual se elabora con té negro, rojo o verde y azúcar. El desarrollo del vinagre se efectuó durante 35 días de fermentación, utilizando tres tipos de sacarosa (A. blanca, A. morena, Panela) y dos clases de especias (tomillo y romero), durante el proceso de fermentación se analizaron las muestras en el día 15, 25 y 35, sometiéndolos a varios análisis químicos (°Brix, pH, Acidez, Alcohol) y microbiológicos (Mohos y Levaduras). Dando como resultado durante las tres etapas de fermentación que la mayoría de muestras cumplen con la norma INEN 2296-2003, también se demostró que, a sus 35 días de fermentación, las muestras alcanzan bajo porcentaje de alcohol. En cuanto a la actividad microbiológica, al mismo tiempo de estudio, en los tratamientos: azúcar blanca - tomillo, azúcar blanca - romero, azúcar morena - tomillo, azúcar morena - romero, panela - tomillo, panela - romero y panela sin especias hubo ausencia de colonias.

También se evaluó la actividad antioxidante en cada una de las muestras, el tratamiento: A. morena-sin especias = 79,44 M/ml; A. morena- romero = 38,18 M/ml y panela-sin especias = 23,95 M/ml, presentaron los porcentajes más altos y su vez fueron sometidas a un análisis sensorial, demostrando que el tratamiento: A. morena-sin especias, fue la mejor calificada por los panelistas. Por último, se comparó la actividad antioxidante de vinagres comerciales (blanco y blanco-especias), con las muestras más altas de la actividad antioxidante, a través de la cual se evidencio que el vinagre a base de té de kombucha, tienen mejores propiedades antioxidantes que un vinagre comercial.

PALABRAS CLAVES: 3 palabras

capacidad antioxidante, kombucha, vinagre

SUMMARY

The Objective of this research is to determine the antioxidant potential of vinegar obtained based on kombucha (*Manchuriam fungus*) with or without spices (*Rosmarinus officinalis* and *Thymus*), which is made with black, red or green tea and sugar. The vinegar Development was carried Out during 35 days of fermentation, using three types of sucrose (A. Blanca, A. Morena, Panela) and two kinds of spices (thyme and rosemary), the fermentation process the samples were analyzed on day 15, 25 and 35, submitting to several chemical analyses (° Brix, pH, Acidity, Alcohol) and microbiological (Molds and Yeasts). Resulting in the three fermentation stages that most samples comply with the standard INEN 2296-2003, it was also shown that, at its 35 days of fermentation, the samples reached low percentage of alcohol. As for the MICROBIOLOGÍA activity, at the same time of study, in the treatments: white sugar-thyme, white sugar-rosemary, brown sugar-thyme, brown sugar-rosemary, panela-thyme, Panela-rosemary and panela without spices there were no colonies

The antioxidant activity was Also assessed in each of the samples, treatment: A. Morena-no spices = 79.44 M/ml; A. Morena-Romero = 38,18 M/ml and panela-no spices = 23.95 M/ml, presented the highest percentages and their time were subjected to a sensory analysis, showing that the treatment: A. Brunette-without spices, was the best qualified by the panelists

Finally, the antioxidant activity of commercial vinegars (white and white-spices) was compared, with the highest samples of the antioxidant activity, through which it is evidencio that the vinegar based on kombucha tea, have better properties Antioxidants that a commercial vinegar

KEY WORDS: 3 words

Antioxidant capacity, kombucha, vinegar.

I. MARCO TEÓRICO

1.1. Actividad Antioxidante

La actividad antioxidante es la capacidad de una sustancia para inhibir la degradación oxidativa (por ejemplo, la peroxidación lipídica), de tal manera que un antioxidante actúa, principalmente, gracias a su capacidad para reaccionar con radicales libres y, por lo tanto, recibe el nombre de antioxidante terminador de cadena. (Londoño 2012).

Según (Navarro et al. 2017). Los antioxidantes pueden contrarrestar los efectos del estrés oxidativo bien por inhibición o por evitar la propagación de las especies reactivas de oxígeno, previniendo y/o reparando los daños que estas moléculas producen. Consistentes estudios epidemiológicos han sugerido que las moléculas antioxidantes presentes en los alimentos pueden prevenir el daño oxidativo derivados de estas reacciones y por tanto tienen un efecto preventivo frente a las enfermedades crónicas. Este efecto protector no solo es debido a sus nutrientes (vitaminas, minerales, péptidos, etc.) sino también a otras moléculas denominadas fitoquímicos entre los que se incluyen los compuestos fenólicos y los carotenoides. Además de las frutas, verduras y vegetales, hay otros alimentos que también tienen una elevada capacidad antioxidante como el té, el vino, el café, y los zumos de frutas.

En un producto alimenticio la capacidad antioxidante está determinada por interacciones entre diferentes compuestos con diferentes mecanismos de acción. Por esto mismo, la determinación de la capacidad antioxidante de extractos complejos se lleva a cabo usualmente por diferentes métodos complementarios, que evalúen diversos mecanismos de acción. (Sasikumar et al. 2012).

1.1.1 Métodos utilizados para determinar la actividad antioxidante

Algunos de los métodos más utilizados, por su simplicidad y reproducibilidad, son FRAP (Poder antioxidante reductor del hierro, por sus siglas en inglés), DPPH (depleción del óxido 2,2-difenil-1-picrilhidrazil) y ABTS (depleción del 2, 2'-Azinobis-3-etil- benzotiazolina-6-ácido sulfónico). (Sasikumar et al. 2012).

1.1.1.1 Frap

El método FRAP se basa en el principio de que los antioxidantes son sustancias capaces de reducir el ion férrico al estado ferroso; en esta forma, el ion forma un complejo coloreado con el compuesto 2,4,6-Tripyridyl-s-Triazine (TPTZ). El método FRAP es, por tanto, un método que no evalúa la capacidad neutralizadora de radicales libres de la muestra estudiada, sino su capacidad reductora por transferencia de electrones. Por el contrario, los métodos ABTS y DPPH evalúan la capacidad de la muestra para neutralizar radicales libres (Mercado et al,2013); (Sasikumar et al. 2012).

1.1.1.2 Dpph

El DPPH es un radical libre estable soluble en metanol que es neutralizado mediante un mecanismo de transferencia de hidrógeno, principalmente; por otra parte, el ABTS•+ es generado tras una reacción que puede ser química (dióxido de manganeso, persulfato potasio, ABAP), enzimática (peroxidasa, mioglobina) o electroquímica y su mecanismo de neutralización es principalmente por transferencia de electrones. (Vábková et al. 2010).

1.1.1.3 Abts

En el método ABTS, también conocido en la literatura científica como el método TEAC (Capacidad antioxidante en equivalentes de trolox, por sus siglas en inglés) se puede medir la actividad de compuestos hidrofílicos y lipofílicos; en cambio, el DPPH solo puede disolverse en medio orgánico por lo que mide preferentemente la capacidad antioxidante de compuestos poco polares. (Vábková et al. 2010)

1.1.2. Compuestos polifenólicos

Los compuestos polifenólicos (CPF) son metabolitos secundarios de las plantas que poseen en su estructura al menos un anillo aromático al que está unido uno o más grupos hidroxilo. Los CPF se clasifican como ácidos fenólicos (AF), flavonoides (FLA) y taninos (TAN). Se han encontrado AF en achiote, ajedrea, azafrán, cebolla, chía, cilantro, clavo, comino, epazote, hinojo, jengibre, laurel, orégano, perejil, romero, tila y tomillo. Por otro lado, los FLA se han encontrado en la mayoría de las especias a excepción del huitlacoche y romero. Algunas especias como la cebolla, clavo, comino, jengibre y tomillo tienen los tres tipos de CPF. (Mercado et al. 2013)

1.2. Vinagre

El vinagre es un líquido miscible, con sabor agrio, proveniente de la fermentación acética del vino (Reyes 2015). El proceso para la obtención de vinagre consiste en una oxidación biológica, en el que un sustrato con un bajo contenido de etanol (50- 100 g / l) se oxida parcialmente por medio de bacterias del ácido acético para producir ácido acético y agua. (De Ory. et al. 2002).

Es producido a partir de materia idónea de origen agrícola que contiene almidón, azúcares o almidón y azúcares, mediante doble fermentación, alcohólica y acética, con una cantidad específica de ácido acético y pequeñas cantidades de otros compuestos químicos tales como alcohol, glicerina y azúcar invertido. (Reyes 2015).

1.2.1 Clases de vinagres

(López. et al. 2005) manifiestan en su investigación que existen muchos tipos de Vinagre según el uso que se le quiera dar. El más común de los Vinagres es el blanco destilado. También se puede producir vinagre a partir de cualquier jugo de fruta, vino, alcohol de arroz, grano, maíz, caña de azúcar, banano, etc.

Las siguientes variedades de vinagre están clasificadas de acuerdo con el material del cual están hechas y los métodos de elaboración:

1.2.1.1 Vinagre blanco destilado

Este Vinagre es el más comúnmente utilizado a nivel de consumo del hogar, la industria alimenticia y la industria farmacéutica. Se produce a través de la fermentación acética del alcohol destilado diluido el cual se origina de diversas fuentes como la caña de azúcar, los granos de maíz, la melaza, etc.

1.2.1.2 Vinagre de frutas:

Este vinagre es hecho de la fermentación alcohólica y subsiguiente acetificación de cualquier fruta. Aunque el jugo de manzana es el más utilizado para hacer vinagre en los Estados Unidos y otros países, hay muchos jugos de frutas satisfactorios como los de banano, naranja, piñas, etc. Cualquier fruta o vegetal que contenga bastante azúcar sirve para este propósito.

1.2.1.3 Vinagre de sidra:

Este vinagre es producido por la fermentación alcohólica y acética del jugo de manzana. Es probablemente después del vinagre blanco el más ampliamente utilizado en la cocina por su delicado y exquisito sabor.

1.2.1.4 Vinagre de vino o de uva:

Este vinagre es elaborado por la fermentación acética y alcohólica del jugo de uva, es ampliamente utilizado en Europa especialmente en Francia e Italia.

1.2.1.5 Vinagre de malta:

Este vinagre es hecho por fermentación alcohólica y posteriormente acetificación sin destilación, de una infusión de malta de cebada o de otros cereales en el que el almidón se convierte en maltosa.

1.2.1.6 Vinagre de azúcar de granos:

Este vinagre es hecho por fermentación alcohólica y acética de una solución de azúcar de almidón de maíz o de glucosa preparada a base de granos de maíz

1.2.1.7 Vinagre de arroz:

Este vinagre es elaborado por fermentación alcohólica y acética de azúcares derivados de arroz o concentrados de arroz sin destilación. El vinagre de arroz es comúnmente utilizado en países asiáticos donde se cultiva en abundancia. (López et al. 2005)

1.3 Té (*Manchurian fungus*)

(Rubio 2010) detalla que el té de Kombucha (*Manchurian fungus*) es una bebida tradicional fermentada; está constituida por una simbiosis de bacterias y levaduras que viven en perfecta armonía preparada previamente con una infusión de té y azúcar. Posee varios efectos beneficiosos que van desde la pérdida de peso a curar el cáncer, inclusive a curar el SIDA. (Battikh et al. 2012).

1.3.1 Obtención del té (*manchurian fungus*)

La adquisición de esta bebida inicialmente comienza con la infusión del té (negro & verde) y la adición de sacarosa, cuando llegue a temperatura ambiente se le coloca una película gelatinosa transparente, que pronto se va opacando por los bordes hasta llegar a cubrir toda la superficie del líquido, logrando así una forma redonda, dependiendo del borde del recipiente. Mientras se degrada el azúcar el té se vuelve ácido, como productos de dicha degradación se obtienen ciertos ácidos y enzimas responsables del sabor característico y de sus efectos benéficos. (Rubio 2010).

Transcurridos entre ocho o catorce días dependiendo de las condiciones ambientales, el cultivo habrá alcanzado un grosor aproximado de entre 7 y 12 milímetros y el té presentará un sabor ligeramente achampañado; entonces es el momento de cosecharlo ya que si se deja fermentar por más de 15 días este se irá acidificando cada vez más hasta convertirse en un vinagre suave antiséptico muy medicinal y adecuado para agregar a los alimentos en su consumo mejorando la textura el sabor y la digestión (ensaladas, legumbres cocidas, pescados etc.) o como preservante natural para encurtidos, marinadas y escabeches. Entre mayor tiempo de fermentación de la bebida, la cantidad de

azúcar será baja y existirá más cantidad de alcohol. El té fermentado se guarda en el refrigerador con el objeto de inhibir el crecimiento bacteriano y su vez proveerle un aspecto agradable al consumidor; siempre y cuando guardándose una pequeña cantidad de té fermentado que servirá para iniciar una nueva fermentación. (Morales 2014) (Stevens 2003).

1.4 Especias

La Norma Oficial Mexicana (NMX-FF-072-1990) define como especia a "cualquiera de los diversos productos vegetales naturales aromáticos, sin materias extrañas, utilizados enteros o en polvo para condimentar, dar sabor, aroma y/o color a los alimentos y bebidas"

1.4.1 Tomillo

El tomillo (*Thymus vulgaris L.*) es una especie aromática, perteneciente a la familia Lamiaceae, que se comercializa en fresco o seco, principalmente para la extracción de su aceite esencial (Guerrero et al. 2011). La composición del aceite esencial de esta especie incluye carvacrol y timol, además de que puede contener p-cimeno, p-terpineno, linalol, borneol, geraniol y cariofile-no (Naghdi, et al, 2004). Estos compuestos confieren olores, sabores y propiedades químicas que sitúan al tomillo como una planta muy cotizada en la industria alimenticia, farmacéutica, perfumería y cosmética. (Muñoz 2002).

1.4.2 Romero

El romero (*Rosmarinus officinalis*) es una especie que pertenece a la familia *Lamiaceae*, rica en principios activos y con acción sobre casi todos los órganos de cuerpo humano, pues posee un alto contenido en aceites esenciales, cuyos ingredientes activos son flavonoides, ácidos fenólicos y principios amargos, genera una acción tónica y estimulante sobre el sistema nervioso, circulatorio y corazón, además de ser colerético, colagogo, antiespasmódico, diurético, emenagogo y antigodanotrópico. (Musa et al. 2008).

1.5 Análisis sensorial

Es una disciplina utilizada para evocar, medir analizar e interpretar las reacciones a aquellas características de alimentos y otras sustancias, que son percibidas por los sentidos de la vista, olfato, gusto, tacto y oído. (Schutz 1971) y de esta manera conocer la opinión y mejorar la aceptación de los productos por parte del consumidor. (Hernández 2005). Dicho de otro modo, es la evaluación de la apariencia, olor, aroma, textura y sabor de un alimento o materia prima. (García 2014).

Para su ejecución se pueden utilizar escalas estructuradas y no estructuradas u los descriptores se ordenan de acuerdo a un orden lógico de degustaciones, es decir primero los de vista, luego los de olfato y finalmente los de boca. (Catania et al. 2007).

1.5.1 Análisis sensorial del vinagre

El catador y/o el consumidor final, emite un juicio espontáneo de lo que siente hacia una materia prima, producto en proceso o producto terminado, luego expresa la cualidad percibida y por último la intensidad.

El vinagre debe presentarse en forma de líquido límpido sin sedimento, incoloro o de color amarillento, olor acético y sabor ácido característico, libre de olor o sabor extraños o anormales. (Coguanor 2011).

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la actualidad es notable el interés que se le está prestando al estudio de los antioxidantes naturales presentes en los alimentos no tan solo por su capacidad de definir las características organolépticas, sino porque además contribuyen en la preservación de la calidad de nutrientes de los productos que los contienen.

Durante los últimos años los hábitos alimenticios de la población mundial en los que se ha sustituido frutas y verduras por el consumo de alimentos procesados, que carecen de propiedades funcionales naturales beneficiosas para el organismo tales como antioxidantes, hierro, vitaminas y minerales; a dado lugar a que un alto porcentaje de los habitantes presenten problemas cardiovasculares, tumorales y neuro-degenerativas. Siendo una materia de gran interés para profesionales de salud e industria alimentaria, constituyendo una mejor estrategia para la prevención de dichas enfermedades.

Según informo el diario El Comercio 9 de marzo de 2016, la Organización Panamericana de la Salud (OPS), llevó a cabo un estudio en Ecuador sobre las poblaciones en riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares; un total del 30% de la población adulta, entre 40 y 69 años corre riesgo de padecer alguna enfermedad asociada con el sistema cardíaco o cáncer.

Una de las provincias que ha incrementado el consumo de alimentos industrializados es Manabí. (Carrera. 2016) menciona que el vinagre industrializado es un producto altamente irritante y que al consumirlo en forma excesiva puede causar daños severos en el tracto digestivo, con riesgo de perforación intestinal y con el tiempo podría convertirse en cáncer gástrico, enfermedad que ha sido considerada por SOLCA (Sociedad de Lucha contra el Cáncer), como la sexta causa de tumores en el Ecuador. (El Telégrafo 2016).

Por estos antecedentes se pretende obtener el mejor vinagre a base de Kombucha (Manchurians fungus), con alta actividad antioxidante, permitiendo que el consumo de este producto pueda contrarrestar varias de las enfermedades que asechan a la población, por aquellos productos industrializados que perjudican notablemente a nuestro organismo

III. JUSTIFICACIÓN

Actualmente la mayoría de la población consume comidas rápidas por cuestiones de tiempo y mal hábito alimenticio, las cuales afectan notablemente al organismo produciendo enfermedades. (Morales 2014). Por lo que el consumo profiláctico de los vinos, tés, así como de sustancias aisladas de los fitoantioxidantes son recomendados por los médicos y los nutricionistas para la prevención del cáncer y enfermedades cardiovasculares, así como de otras enfermedades crónicas serias. (Bara et al. 2008)

En los últimos años se ha relacionado el estrés oxidativo con las enfermedades crónicas, ocasionando sobreproducción de radicales libres y especies reactivas del oxígeno que producen un desbalance entre los niveles prooxidantes/antioxidantes. (Arnao et al. 2011).

Para contrarrestar los efectos perjudiciales para la salud, nuestro organismo cuenta con defensas antioxidantes, como las enzimas superóxido dismutasa (SOD), catalasa, glutatión peroxidasa, además de la vitamina C, fenoles y flavonoides, que absorbemos de los alimentos origen vegetal, denominados compuestos polifenólicos (CPF). (Coronado et al. 2015).

En particular, el efecto beneficioso para la salud cardiovascular por el consumo de CPF, se fundamenta en su capacidad para secuestrar radicales libres (antioxidante) (Córdova et al. 2008); evento metabólico que justifica sus acciones vasodilatadoras, vasoprotectoras, antitrombóticas, antilipémicas, antiateroscleróticas, antiinflamatorias y antiapoptóticas.

Según (Mercado et al. 2013), el efecto benéfico del consumo cotidiano de especias como tomillo, romero, etc. Es notable en la prevención de enfermedades cardiovasculares, reducción en la incidencia de cáncer o neoplasias; además favorecen a la digestión y absorción de los alimentos e incrementan el gasto energético y sentido de saciedad útil para prevención de la obesidad. Dichas propiedades se deben a su a la naturaleza química y en particular a los compuestos polifenólicos.

Nuestro cuerpo recibe múltiples beneficios cuando consumimos alimentos con un alto valor antioxidante, tal es el caso de vinagres obtenidos naturalmente, el cual en los últimos años su consumo ha tenido un alza debido a que otros productos lo contienen y que al ser ingeridos contribuyen a regular la glucosa en la sangre y la presión sanguínea, ayuda a la digestión, estimula el apetito y promueve la absorción de calcio. (Qi Z et al. 2014); (Xu Q et al. 2007).

Así mismo existen diferentes tipos de hongos y bacterias beneficiosas para el organismo, uno de ellos es el *Manchurian fungus*, siendo en los últimos años su consumo muy popular en América y en los países del centro y norte de Europa. (Stevens 2003). Existe mucha literatura sobre los beneficios terapéuticos del té Kombucha, entre ellos, el efecto antimicrobiano y antibiótico de los polifenoles y catequinas producidos durante la fermentación; sin embargo, no existen datos clínicos o experimentales de la efectividad de esta sustancia. (Caicedo et al 2017).

Es por esto que en esta investigación se pretende comprobar la actividad antioxidante del vinagre de Kombucha con la utilización de especias tomillo y romero, el cual se intenta promocionar su consumo a nivel nacional como un producto funcional y de buen gusto, y que presentaría evidencias de efectos positivos en la salud recomendado para el consumo en aquellas ciudades manabitas que presentan altos niveles de enfermedades crónicas.

IV. HIPOTESIS

El vinagre obtenido a base de *Manchuriam fungus* presenta capacidad antioxidante.

V. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

Determinar el potencial antioxidante del vinagre obtenido a base de kombucha (*Manchuriam fungus*) con o sin especias (*Rosmarinus officinalis* y *Thymus*).

5.2 Objetivos específicos

1. Analizar las características químicas y microbiológicas de los diferentes tipos de vinagre a base de kombucha con o sin especias según la norma INEN 2296-2003.
2. Evaluar la actividad antioxidante de los vinagres a base de Kombucha por 35 días a temperatura ambiente.
3. Determinar los mejores tratamientos que hayan tenido diferencia significativa en su actividad antioxidante, y mediante un análisis sensorial evaluar su aceptabilidad.
4. Realizar una comparación entre los vinagres de kombucha con mayor significancia en su actividad antioxidante y los vinagres que se encuentren comercializándose en la ciudad de Manta.

VI. METODOLOGIA

6.1 Tipo de diseño

Para la investigación del estudio se utilizó un diseño completamente al azar con un arreglo de diseño trifactorial AxBxC, con tres repeticiones.

6.2 Análisis estadístico

Se realizó el análisis de varianza ADEVA al 5% y la prueba mínima de comparación de acuerdo con la prueba de Tukey. Todos los datos fueron realizados por triplicado y los resultados fueron procesados por el programa Infostat 2018.

Tabla N°1. Tratamientos análisis de varianza

| Fuente de variación | | G.L |
|----------------------------|------------|------------|
| total | (t*r-1) | 80 |
| tratamientos | (t-1) | 26 |
| Repetición | r-1 | 2 |
| Factor A | FA-1 | 2 |
| Factor B | FB-1 | 2 |
| Factor C | FC-1 | 2 |
| Internación (AxB) | (FAxFB) | 4 |
| Internación (AxC) | (FAxFC) | 4 |
| Internación (BxC) | (FBxFC) | 4 |
| Internación (AxBxC) | (FAxFBxFC) | 8 |
| Error experimental | (t-1)(r-1) | 28 |

Elaborado por. Moreira C. & Zambrano L. 2019

$$\text{Coeficiente de variación (\%)} \text{ CV} = \frac{\sqrt{\text{CM ERROR}}}{\bar{x}} * 100$$

6.3 Tratamientos

En la tabla N°2, se detallan los 27 tratamientos de las combinaciones de los factores de estudio a analizar tales como; A: días de fermentación, B: tipo de azúcar y C: tipo de especias.

Tabla N°2. Tratamientos para la obtención de vinagre a base de té (*Manchurian fungus*)

| N° | Tratamientos | Días de Fermentación | Tipo Azúcar | Tipo de especias |
|----|--------------|----------------------|-------------|------------------|
| 1 | A1B1C1 | 15 días | Blanca | Tomillo |
| 2 | A1B1C2 | 15 días | Blanca | Romero |
| 3 | A1B1C3 | 15 días | Blanca | Sin Especias |
| 4 | A1B2C1 | 15 días | Morena | Tomillo |
| 5 | A1B2C2 | 15 días | Morena | Romero |
| 6 | A1B2C3 | 15 días | Morena | Sin Especias |
| 7 | A1B3C1 | 15 días | Panela | Tomillo |
| 8 | A1B3C2 | 15 días | Panela | Romero |
| 9 | A1B3C3 | 15 días | Panela | Sin Especias |
| 10 | A2B1C1 | 25 días | Blanca | Tomillo |
| 11 | A2B1C2 | 25 días | Blanca | Romero |
| 12 | A2B1C3 | 25 días | Blanca | Sin Especias |
| 13 | A2B2C1 | 25 días | Morena | Tomillo |
| 14 | A2B2C2 | 25 días | Morena | Romero |
| 15 | A2B2C3 | 25 días | Morena | Sin Especias |
| 16 | A2B3C1 | 25 días | Panela | Tomillo |
| 17 | A2B3C2 | 25 días | Panela | Romero |
| 18 | A2B3C3 | 25 días | Panela | Sin Especias |
| 19 | A3B1C1 | 35 días | Blanca | Tomillo |
| 20 | A3B1C2 | 35 días | Blanca | Romero |
| 21 | A3B1C3 | 35 días | Blanca | Sin Especias |
| 22 | A3B2C1 | 35 días | Morena | Tomillo |
| 23 | A3B2C2 | 35 días | Morena | Romero |
| 24 | A3B2C3 | 35 días | Morena | Sin Especias |

| | | | | |
|----|--------|---------|--------|--------------|
| 25 | A3B3C1 | 35 días | Panela | Tomillo |
| 26 | A3B3C2 | 35 días | Panela | Romero |
| 27 | A3B3C3 | 35 días | Panela | Sin Especies |

Elaborado por. Moreira C. & Zambrano L. 2019

6.4 Metodología para la obtención del vinagre de kombucha

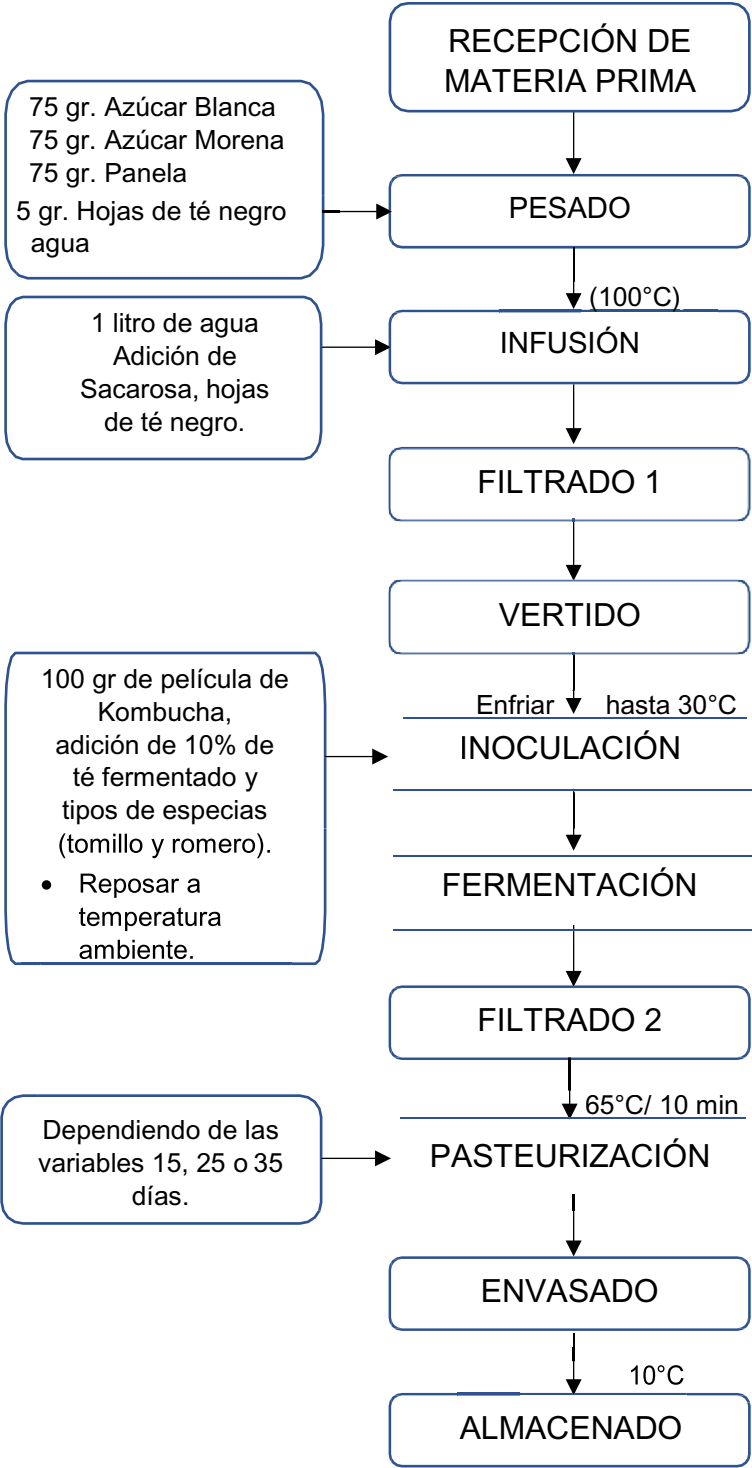
Para la elaboración del vinagre de kombucha se aplicó un diseño trifactorial AxBxC, siendo sus variables, tipos de azúcar, tipos de especias y días de fermentación; se elaboró en primer instancia una infusión de té negro con cada tipo de azúcar acompañado de especias (romero y tomillo) y fermentado con un consorcio de bacterias y levaduras las cuales dieron como resultado la producción de vinagre, la bebida se almaceno en frascos de vidrio de 800 ml manteniéndola a temperatura ambiente, los de días de fermentación fueron 15, 25 y 35 días, en los cuales en cada uno de ellos se determinó su actividad antioxidante con el método ABTS; análisis de porcentaje de alcohol, brix , pH, acidez titulable, recuento de aerobios mesófilos, mohos y levaduras , dichos análisis se realizaron cada 10 días. Los tratamientos en estudio se los llevó a cabo temperatura ambiente durante un mes y medio

Concluido los días de fermentación mediante una prueba hedónica aplicada a 20 panelistas sin entrenar, se estudió la aceptabilidad de las muestras de vinagre para aquellas que tuvieron altos valores de actividad antioxidante.

Además, se evaluó la actividad antioxidante de vinagres comercializados en la ciudad de manta, dichos resultados fueron tomados como referencias para su comparación con los vinagres a base de té de Kombucha.

A continuación, se detalla el diagrama de flujo que se utilizó para la elaboración del vinagre de kombucha (*Manchurian fungus*).

6.5 Diagrama de flujo de elaboración de vinagre a base de té de kombucha (Manchurian fungus).



(Vargas 2011); (Rubio 2010).

6.5.1 Descripción del diagrama de flujo

Para la preparación de té (*Manchurian fungus*) se utilizó la técnica descrita por (Rubio 2010) y (Vargas 2011) en su investigación de elaboración de bebida a base de este hongo, para el vinagre con las características que se detallan a continuación:

- **Té “madre”**

Esta bebida de té “Madre” se la utilizo como base para la elaboración del producto final.

2. Se receptó la materia prima e insumos cumpliendo con los requisitos de calidad.

3. Se pesó 5 gr de té negro y 75 gr de sacarosa por cada litro de agua, y luego se añadió en la infusión.

4. Se hirvió agua hasta el punto de ebullición (100°C), posterior se retiró del fuego y se agregó hojas de té negro dejando reposar hasta que su temperatura descienda por debajo de 30°C, se adjuntó la sacarosa que anteriormente fue pesada, teniendo presente que el tipo de endulzante varió de acuerdo a los tratamientos.

5. Se filtró la infusión, eliminando partículas extrañas, y se vertió en los recipientes de vidrio manteniendo su temperatura.

6. Una vez vertidos en los recipientes, por cada litro de bebida se le añadió el 10% (100 gr) de película del hongo (*Manchurian fungus*), seguidamente se le adicionó un 10% de té fermentado

7. Se procedió a tapar los recipientes con lienzo, esto permitió que el oxígeno interactúe con la bebida y así dejando fermentar por 7 días a temperatura ambiente.

- **Té “hijo”**

La bebida que se obtuvo anteriormente, se la utilizó como base de inoculación para la elaboración del té final (té hijo); siguiendo los mismos pasos de

producción se desarrollaron tres litros de bebida por cada tipo de sacarosa (Blanca, Morena y Panela), los cuales se dividieron para la adición de las especias (romero y tomillo), peso que fue de 10 gr por litro (Vargas, 2014); sus días de fermentación variaron en 15, 25 y 35 de acuerdo a las variables estudiadas. Cuando transcurrieron los días estimados, se filtraron las bebidas y se pasteurizaron a una temperatura de 65°C, luego fueron envasadas y almacenadas a temperatura de refrigeración (10 – 12 °C) aprox.

6.5.2 Metodología de análisis

- **Porcentaje de alcohol**

Para el porcentaje de alcohol se utilizó el alcoholímetro, empleando el método de ensayo A.O.A.C 930,35; y además se rigió por la Norma INEN 2296-2013.

- **Brix**

La determinación del contenido de sólidos solubles se realizó con el refractómetro digital (Atago, Japón), reportándose como °Brix, (AOAC 1990).

- **pH**

Para determinación del pH se utilizó el método de potenciómetro de la A.O.A.C. (método A.O.A.C 981,12). (A.O.A.C 1980).

- **Acidez titulable**

La cuantificación de acidez titulable se efectuó mediante la valoración con solución de NaOH 0,01 M de acuerdo con el método de la (AOAC 1984).

6.5.3 Actividad antioxidante

Para esta metodología se utilizó 50 ml de muestra, para cada repetición, las cuales fueron tomadas como compuestos fenólicos totales por medio del ensayo TEAC modificado, usando la decoloración por el radical catión ABTS y expresada finalmente como mg Trolox/g muestra. El radical ABTS, se preparó mediante la reacción acuosa de persulfato de potasio 2,45 mM y ABTS 7 mM. Éste se dejó reposar en la oscuridad por 16h a 20°C. La solución de ABTS obtenida se diluyó

con etanol hasta obtener una absorbancia de 0,70 a 734 nm 30°C (espectrofotómetro Thermo Spectronic Genesys 10uv).

Para La realización de la curva de calibración se colocó en la celda 1 mL de la solución de radical ABTS, y la absorbancia inicial. Entonces se añadió 10 µL de cinco soluciones del estándar Trolox, y se tomó la absorbancia a 734 nm con un blanco a base de etanol. Para la evaluación de la actividad antioxidante se reemplazó los 10 µL de la solución de Trolox por el extracto de cada tratamiento. La absorbancia se Leyó al 1min y 6min de haber incorporado los 10 µL de extracto.

6.5.4 Análisis microbiológico

- **Recuento de aerobios mesófilos**

El recuento de microorganismo aerobios mesófilos se lo determinó con la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-5, las muestras estudiadas, se diluyeron hasta $10x^{-2}$ por duplicado, y asimismo se utilizó como medio de cultivo el Plante Count Agar (PCA).

- **Recuento de mohos y levaduras**

El recuento de mohos y levaduras en placa por siembra en profundidad se lo llevó a cabo en conformidad a la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-10, para ello se diluyeron las muestras hasta $10x^{-3}$ y como medio de cultivo se empleó el Agar Rosa Bengala + Cloranfenicol + Dicloran (DRBC).

6.5.5 Análisis sensorial (aceptabilidad)

El análisis sensorial es una de las herramientas claves para garantizar la calidad de un producto en estudio, en esta investigación se atribuirá este requisito, para aquellos tratamientos que cumplieron con un alto potencial antioxidante.

Se empleó una prueba hedónica de atributos que determinó el grado de aceptabilidad de estos. Los tratamientos de vinagre fueron evaluados en la última etapa de la investigación, es decir cuando concluyeron los 35 días de fermentación, se utilizó una escala hedónica de 5 puntos, con 20 panelistas no

entrenados aleatoriamente.

Las muestras fueron codificadas de acuerdo con los tratamientos, los cuales fueron presentados a los panelistas. El grado de aceptación de los vinagres se lo determinó a través de los siguientes parámetros que son: Color, Olor, Sabor, Acidez y Apariencia general.

- **Degustación**

Se utilizaron pequeños vasos y pipetas de plástico para realizar este estudio. Entre la evaluación de cada muestra se ingirió galleta de soda y agua para proseguir con la siguiente. Se solicitó a los panelistas seguir las siguientes instrucciones:

A. Fase color:

1. Evaluar a tras-luz a una distancia prudente a la altura del campo visual.
2. Anotar la evaluación.

B. Fase olor:

1. Agitar el líquido en su recipiente durante 10 s.
2. Huela la muestra, manteniendo el recipiente cerca de la nariz. Realizar las inspiraciones en forma lenta, corta e intensa.
3. El tiempo de olfato no debe ser superior a 15 segundos. Si no puede decidir, hacer una pausa de 30 segundos, retire la muestra, antes de intentar de nuevo.
4. Si no tiene un criterio evaluación formado, repetir el proceso a partir del Ítem # 1.
5. Anotar la evaluación.

C. Fase sabor:

1. Con la pipeta de plástico (1,5 ml) tomar una pequeña gota del vinagre seleccionado e introducirla a la boca sin ingerir, deslizándola dentro de la boca por 5 segundos.

2. Eliminar la muestra en el espacio indicado.
3. Si no tiene un criterio evaluación formado repetir el proceso a partir del Ítem # 1.
4. Anotar la evaluación.
5. Para evaluar otra muestra o repetir ingerir galleta de soda y agua.

D. Fase apariencia general:

1. Dé un vistazo general a cada una de las muestras de forma minuciosa por 5 segundos.
2. Anotar la evaluación. (Tsfaye 2010)

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Análisis de grados brix

Los grados Brix de cada una de las muestras de vinagre de kombucha fueron disminuyendo con el paso de los días de fermentación, esto lo corrobora (Morales,2014), la cual indica que a mayor tiempo de fermentación menor cantidad de azúcares en disolución existente.

Los valores de las muestras que se presentaron a los 15 días, se mantuvieron en su mayoría tanto en los 25 y 35 días de fermentación. De esta forma como lo señala la Tabla N.1, la cual se observa que el tope máximo de grados fue de 6,87 °Brix para la muestra A1B1C3: A. blanca–sin especias, y el mínimo de 2 °Brix para la muestra A1B3C2: panela–romero. (**VER TABLA N.1**)

La diferencia significativa se da en las muestras elaboradas con azúcar blanca, debido a que esta contiene altos porcentajes de sacarosa, a diferencia de la azúcar morena, que posee mucha menor cantidad.

En los días 25 y 35 de fermentación, las muestras con azúcar morena mantuvieron altos de grados brix, a diferencia de los otro tipos endulzantes, debido a que a que posiblemente la cantidad de los microorganismos fue insuficiente para la gran porcentaje de sacarosa que se manejó dentro del té de kombucha, por lo que no cumplieron correctamente su funcionamiento metabólico, demostrando que ha grandes cantidades de sacarosa, el té se satura, sosteniendo altos los grados brix.(Morales 2014) (**VER TABLA N.2 y 3**)

Análisis de varianza

DIA 15

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,15573

Error: 0,0030 gl: 18

TABLA N. 1 Análisis varianza (grados brix, 15 días) °BX (GRADOS BRIX)

| TRATAMIENTOS | Medias | n | E.E. | | | | |
|--------------|--------|---|------|---|---|---|---|
| A1B1C3 | 6,87 | 3 | 0,03 | A | | | |
| A1B2C3 | 6,00 | 3 | 0,03 | | B | | |
| A1B1C2 | 5,00 | 3 | 0,03 | | | C | |
| A1B3C3 | 4,93 | 3 | 0,03 | | | C | |
| A1B2C2 | 4,93 | 3 | 0,03 | | | C | |
| A1B2C1 | 4,00 | 3 | 0,03 | | | | D |
| A1B1C1 | 3,07 | 3 | 0,03 | | | | E |
| A1B3C1 | 3,03 | 3 | 0,03 | | | | E |
| A1B3C2 | 2,00 | 3 | 0,03 | | | | F |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Elaborado por: Moreira C. & Zambrano L. 2019

DIA 25

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,38541

Error: 0,0181 gl: 18

TABLA N. 2 Análisis varianza (grados brix, 25 días) °BX (GRADOS BRIX)

| TRATAMIENTOS | Medias | n | E.E. | | | | |
|--------------|--------|---|------|---|---|---|----|
| A2B1C3 | 5,77 | 3 | 0,08 | A | | | |
| A2B2C3 | 4,60 | 3 | 0,08 | | B | | |
| A2B1C2 | 3,97 | 3 | 0,08 | | | C | |
| A2B3C3 | 3,77 | 3 | 0,08 | | | C | |
| A2B2C2 | 3,27 | 3 | 0,08 | | | | D |
| A2B3C1 | 2,87 | 3 | 0,08 | | | | E |
| A2B1C1 | 2,80 | 3 | 0,08 | | | | EF |
| A2B3C2 | 2,53 | 3 | 0,08 | | | | EF |
| A2B2C1 | 2,43 | 3 | 0,08 | | | | F |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Elaborado por: Moreira C. & Zambrano L. 2019

DIA 35

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,35682

Error: 0,0156 gl: 18

TABLA N. 3 . Análisis varianza (grados brix, 35 días) °BX (GRADOS BRIX)

| TRATAMIENTOS | Medias | n | E. E. | | |
|--------------|--------|---|-------|---|---|
| A3B1C3 | 4,87 | 3 | 0,07 | A | |
| A3B1C1 | 4,27 | 3 | 0,07 | | B |
| A3B2C2 | 3,60 | 3 | 0,07 | | C |
| A3B3C3 | 3,30 | 3 | 0,07 | | C |
| A3B2C3 | 3,27 | 3 | 0,07 | | C |
| A3B1C2 | 3,27 | 3 | 0,07 | | C |
| A3B2C1 | 2,83 | 3 | 0,07 | | D |
| A3B3C1 | 2,73 | 3 | 0,07 | | D |
| A3B3C2 | 2,60 | 3 | 0,07 | | D |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Elaborado por: Moreira C. & Zambrano L. 2019

7.2 Resultados análisis de pH

De acuerdo a las **TABLAS N. (4, 5 y 6)** podemos mencionar que el rango de pH (3,4 - 2,7) se mantuvo en las tres etapas de fermentación. El orden de mayor a menor valor de pH lo posee las muestras elaboradas con panela, azúcar blanca y azúcar morena respectivamente, los cuales son proporcional a la cantidad de sacarosa presente en los endulzantes utilizados, la azúcar blanca posee alrededor de un 99 % de sacarosa, azúcar morena del 96 al 98% Y panela entre un 73 al 85% de sacarosa. (Morales 2014) **(VER TABLA N. 4-5-6)**

Mientras mayor sea la cantidad de sacarosa, será mayor el desdoblamiento realizado por los microorganismos (*Acetobacter*) y por ende será mayor la acidez de las muestras, a excepción de la muestra A1B2C3 (azúcar morena) que en los días 15 y 25 de fermentación presentó los valores más bajos.

(VER TABLA N.5 Y 6)

Estos valores de pH disminuyeron ligeramente al día 35 de fermentación, es decir que más acida serán las muestras a medida que el tiempo de fermentación va en aumento; ya que será mayor el tiempo que poseen los microorganismos presentes en la kombucha para la transformación de sacarosa en glucosa y

fructosa mediante hidrolisis por la acción de la enzima sacarasa o invertasa (de la levadura) la cual invierte su signo de rotación de (+ a -) , las mismas que se degradan por las bacterias y levaduras a ácidos orgánicos de baja cadena carbonada como ácido acético glucurónico , láctico etc. También deducimos que en aquellas muestras que tienen un pH bajo (condiciones ácidas) se detiene el desarrollo de bacterias. (Morales 2014) (**VER TABLA N. 6**)

DIA 15

Análisis de la varianza

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,07786

Error: 0,0007 gl: 18

TABLA N. 4 Análisis varianza (valores de PH, 15 días)

| TRATAMIENTOS | Medias | n | E.E. | | |
|--------------|--------|---|-------|---|---|
| A1B3C1 | 3,40 | 3 | 0,02A | | |
| A1B3C2 | 3,40 | 3 | 0,02A | | |
| A1B3C3 | 3,33 | 3 | 0,02A | | |
| A1B2C2 | 3,10 | 3 | 0,02 | B | |
| A1B2C1 | 3,10 | 3 | 0,02 | B | |
| A1B1C2 | 3,10 | 3 | 0,02 | B | |
| A1B1C1 | 3,07 | 3 | 0,02 | B | |
| A1B1C3 | 2,90 | 3 | 0,02 | C | |
| A1B2C3 | 2,80 | 3 | 0,02 | | D |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Elaborado por: Moreira C. & Zambrano L. 2019

DIA 25

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,07786

Error: 0,0007 gl: 18

TABLA N. 5 Análisis varianza (valores de PH, 25 días)

| TRATAMIENTOS | Medias | n | E.E. | | | | |
|--------------|--------|---|-------|---|---|---|---|
| A2B3C2 | 3,40 | 3 | 0,02A | | | | |
| A2B3C3 | 3,33 | 3 | 0,02A | B | | | |
| A2B3C1 | 3,30 | 3 | 0,02 | B | | | |
| A2B2C2 | 3,10 | 3 | 0,02 | | C | | |
| A2B2C1 | 3,10 | 3 | 0,02 | | C | | |
| A2B1C2 | 3,00 | 3 | 0,02 | | | D | |
| A2B1C1 | 3,00 | 3 | 0,02 | | | D | |
| A2B1C3 | 2,97 | 3 | 0,02 | | | D | E |
| A2B2C3 | 2,90 | 3 | 0,02 | | | | E |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Elaborado por: Moreira C. & Zambrano L. 2019

DIA 35

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,07786

Error: 0,0007 gl: 18

TABLA N. 6 . Análisis varianza (valores de PH, 35 días)

| TRATAMIENTOS | Medias | n | E.E. | | | |
|--------------|--------|---|-------|---|---|---|
| A3B3C2 | 3,30 | 3 | 0,02A | | | |
| A3B3C3 | 3,30 | 3 | 0,02A | | | |
| A3B3C1 | 3,23 | 3 | 0,02A | | | |
| A3B2C1 | 3,00 | 3 | 0,02 | B | | |
| A3B2C2 | 2,97 | 3 | 0,02 | B | C | |
| A3B1C2 | 2,90 | 3 | 0,02 | | C | |
| A3B1C1 | 2,90 | 3 | 0,02 | | C | |
| A3B2C3 | 2,80 | 3 | 0,02 | | | D |
| A3B1C3 | 2,70 | 3 | 0,02 | | | E |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Elaborado por: Moreira C. & Zambrano L. 2019

7.3 Resultados análisis de acidez (Acidez total % m/v)

Los valores obtenidos a los 15 días de fermentación fueron bajos de acuerdo a los parámetros que exige la norma. En las tres variables de fermentación se puede observar que las muestras que presentan mayor acidez son las que fueron elaboradas con especias, los valores más altos se presentaron en las muestras A2B3C1 = panela-tomillo, A3B1C1=A.blanca-tomillo. Y A3B2C1= A.morena-tomillo, además con el paso de los días fue aumentando los niveles de acidez en cada una de las muestras. **(VER TABLA N. 7-8-9)**

De acuerdo a nuestros resultados podemos sostener el criterio de (Morales 2014); donde nos menciona en su investigación que el tiempo de fermentación influye sobre la acidez, Si existe una alta concentración de sacarosa los microorganismos presentes en la Kombucha se encargan de hidrolizarla generando glucosa y fructosa.

En el caso de las levaduras estas utilizan la glucosa para producir etanol en el proceso de fermentación alcohólica y CO₂, que a vez el etanol es oxidado a ácido acético por las bacterias acéticas (*Acetobacter*) en el proceso de fermentación acética, mientras que las bacterias ácido lácticas actúan sobre el etanol y el ácido acético produciendo ácido láctico, además las bacterias acéticas

convierten la glucosa en ácido glucorónico y la fructosa en ácido acético. Por estas razones las muestras poseen un elevado índice de acidez. (Morales 2014)

Análisis de la varianza

DIA 15

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,58788

Error: 0,0422 gl: 18

TABLA N. 7 Análisis varianza (valores de acidez, 15 días) Acidez total % m/v)

| TRATAMIENTOS | Medias | n | E.E. | | | | |
|--------------|--------|---|-------|---|---|---|---|
| A1B3C2 | 2,44 | 3 | 0,12A | | | | |
| A1B3C1 | 1,90 | 3 | 0,12A | B | | | |
| A1B3C3 | 1,56 | 3 | 0,12 | B | C | | |
| A1B1C1 | 1,43 | 3 | 0,12 | B | C | D | |
| A1B2C3 | 1,31 | 3 | 0,12 | | C | D | |
| A1B1C2 | 1,29 | 3 | 0,12 | | C | D | |
| A1B2C1 | 0,99 | 3 | 0,12 | | C | D | E |
| A1B2C2 | 0,91 | 3 | 0,12 | | | D | E |
| A1B1C3 | 0,50 | 3 | 0,12 | | | | E |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Elaborado por: Moreira C. & Zambrano L. 2019

DIA 25

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,27341

Error: 0,0091 gl: 18

TABLA N. 8 Análisis varianza (valores de acidez, 25 días) (Acidez total % m/v))

| TRATAMIENTOS | Medias | n | E.E. | | | | |
|--------------|--------|---|------|---|---|---|---|
| A2B3C1 | 3,64 | 3 | 0,06 | A | | | |
| A2B3C2 | 2,98 | 3 | 0,06 | | B | | |
| A2B2C1 | 2,39 | 3 | 0,06 | | | C | |
| A2B1C1 | 2,18 | 3 | 0,06 | | | C | |
| A2B3C3 | 2,16 | 3 | 0,06 | | | C | |
| A2B2C3 | 1,80 | 3 | 0,06 | | | | D |
| A2B2C2 | 1,71 | 3 | 0,06 | | | | D |
| A2B1C2 | 1,40 | 3 | 0,06 | | | | E |
| A2B1C3 | 0,63 | 3 | 0,06 | | | | F |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Elaborado por: Moreira C. & Zambrano L. 2019

DIA 35

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,30005

Error: 0,0110 gl: 18

TABLA N. 9 Análisis varianza (valores de acidez, 35 días)(Acidez total % m/v)

| TRATAMIENTOS | Medias | n | E.E. | | | |
|--------------|--------|---|-------|---|---|---|
| A3B1C1 | 3,52 | 3 | 0,06A | | | |
| A3B2C1 | 3,46 | 3 | 0,06A | | | |
| A3B2C2 | 2,84 | 3 | 0,06 | B | | |
| A3B1C2 | 2,76 | 3 | 0,06 | B | | |
| A3B3C1 | 2,61 | 3 | 0,06 | B | | |
| A3B3C2 | 2,02 | 3 | 0,06 | | C | |
| A3B3C3 | 1,62 | 3 | 0,06 | | | D |
| A3B2C3 | 1,46 | 3 | 0,06 | | | D |
| A3B1C3 | 1,22 | 3 | 0,06 | | | E |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Elaborado por: Moreira C. & Zambrano L. 2019

7.4 Resultados análisis de alcohol (Alcohol etílico a 20 C % v/v)

Los resultados reflejan que en las tres etapas de fermentación las muestras con valores más altos de porcentajes de alcohol son las que fueron elaboradas sin especias siendo la muestra panela sin especias el tratamiento que presentó mayores valores en las tres etapas. Se puede comprobar además que a los 35 días de fermentación los porcentajes de alcohol entran en el rango establecido por la normativa a medida que aumentan los días de fermentación los niveles de alcohol descienden, esto se genera debido a que el consorcio de microorganismos presentes en la Kombucha hidroliza la sacarosa y generan glucosa y fructosa. Las levaduras utilizan la glucosa resultante del desdoblamiento de la sacarosa para producir etanol (fermentación alcohólica) y CO₂, que a vez el etanol es oxidado a ácido acético (fermentación acética) por las bacterias acéticas (*Acetobacter*). Es decir que a menor presencia de etanol los niveles de acidez (ácido acético) aumentan. (Morales 2014) **(VER TABLAS 10-11 y 12)**

DIA 15

Análisis de la varianza

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,26973

Error: 0,0089 gl: 18

TABLA N. 10 Análisis varianza (% de alcohol, 15 días) (Alcohol etílico 20 C % v/v)

| TRATAMIENTOS | Medias | n | E.E. | | |
|--------------|--------|---|-------|----|---|
| A1B2C3 | 2,83 | 3 | 0,05A | | |
| A1B1C3 | 2,77 | 3 | 0,05A | | |
| A1B2C2 | 2,03 | 3 | 0,05 | B | |
| A1B1C2 | 2,00 | 3 | 0,05 | B | |
| A1B3C3 | 1,90 | 3 | 0,05 | BC | |
| A1B2C1 | 1,80 | 3 | 0,05 | BC | |
| A1B3C1 | 1,63 | 3 | 0,05 | C | |
| A1B1C1 | 0,97 | 3 | 0,05 | | D |
| A1B3C2 | 0,93 | 3 | 0,05 | | D |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Elaborado por: Moreira C. & Zambrano L. 2019

DIA 25

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,17411

Error: 0,0037 gl: 18

TABLA N. 11 Análisis varianza (% de alcohol, 25 días) (Alcohol etílico 20 C% v/v)

| TRATAMIENTOS | Medias | n | E.E. | | |
|--------------|--------|---|------|---|---|
| A2B1C3 | 2,67 | 3 | 0,04 | A | |
| A2B1C2 | 1,77 | 3 | 0,04 | | B |
| A2B3C3 | 1,77 | 3 | 0,04 | | B |
| A2B2C3 | 1,67 | 3 | 0,04 | | B |
| A2B2C2 | 1,30 | 3 | 0,04 | | C |
| A2B3C1 | 1,00 | 3 | 0,04 | | D |
| A2B3C2 | 0,97 | 3 | 0,04 | | D |
| A2B2C1 | 0,87 | 3 | 0,04 | | D |
| A2B1C1 | 0,87 | 3 | 0,04 | | D |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Elaborado por: Moreira C. & Zambrano L. 2019

DIA 35

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,23999

Error: 0,0070 gl: 18

TABLA N.12 Análisis varianza (% de alcohol, 35 días)(Alcohol etílico a 20 C % v/v)

| TRATAMIENTOS | Medias | n | E.E. | |
|--------------|--------|-------|------|---|
| A3B1C3 | 1,63 | 30,05 | A | |
| A3B3C1 | 0,93 | 30,05 | | B |
| A3B1C1 | 0,93 | 30,05 | | B |
| A3B1C2 | 0,93 | 30,05 | | B |
| A3B2C3 | 0,90 | 30,05 | | B |
| A3B2C2 | 0,90 | 30,05 | | B |
| A3B3C3 | 0,87 | 30,05 | | B |
| A3B3C2 | 0,83 | 30,05 | | B |
| A3B2C1 | 0,83 | 30,05 | B | |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Elaborado por: Moreira C. & Zambrano L. 2019

7.5 Resultados recuento de aerobios mesófilos y mohos y levaduras

Aerobios mesófilos = Numero de microorganismos /g o cm³

Mohos y levaduras = UP de mohos y/o levaduras/ cm³

N.e = número estimado

La presencia de mohos y levaduras fue mínima a los 15 días de fermentación, solo se demostró el crecimiento de colonias en una de las muestras. A los 25 días de fermentación, se mostró la ausencia de mohos y levaduras; se puede notar además que la presencia de aerobios mesófilos se mantiene en la mayoría de los vinagres. Durante los 35 días de fermentación se observó la presencia de mohos y levaduras solo en una de las muestras, contrastando un decrecimiento de presencia en los vinagres de Kombucha; al final del proceso de fermentación en el 90% de los tratamientos no hubo presencia de microorganismos.

Durante la fermentación de 15 y 25 días la presencia de aerobios mesófilos fue significativa en la mayoría de las muestras, debido a que el proceso fermentativo expone a las muestras a la oxigenación, por lo tanto, la carga microbiana es alta. (Morales 2014)

En aerobios mesófilos a los 35 días de fermentación claramente se observó mínima presencia, ya que se da entender que a más días de fermentación los aerobios mesófilos terminan con su etapa de fermentación (mueren), por la falta de nutrientes en que ellos estén expuestos. Es decir que las bacterias y levaduras, mueren por la falta de sacarosa, que es la que les permite sobrevivir en el medio (Morales 2014).

Además, la ausencia del consorcio de microorganismos de kombucha se dio por las altas temperaturas que fueron sometidos los vinagres, ya que (Stevens 2003). Manifiesta que el té de Kombucha, al ser sometido a altas temperaturas, el consorcio de bacterias y levaduras mueren. (Morales 2014). También nos menciona que la presencia los microorganismos va decreciendo al pasar de los días de fermentación.

TABLA N. 13 Resultados de análisis microbiológicos Aerobios Mesófilos y Mohos y levaduras (15 DIAS)

| TRATAMIENTOS | ANÁLISIS AEROBIOS MESOFILOS | | | ANÁLISIS: MOHOS Y LEVADURAS | | |
|---------------------------------------|-----------------------------|------------------------|------------------------|-----------------------------|------------------------|------------------------|
| | 15 DIAS | 25 DIAS | 35 DIAS | 15 DIAS | 25 DIAS | 35 DIAS |
| A1B1C1 Blanca-tomillo | $\leq 1,0 \times 10^{-1}$ | $7,5 \times 10^2$ | $< 1,0 \times 10^{-1}$ | $\leq 1,0 \times 10^{-1}$ | $< 1,0 \times 10^{-1}$ | $< 1,0 \times 10^{-1}$ |
| A1B1C2 Blanca-romero | $4,2 \times 10^{-3}$ | N.e = 0,1 | $< 1,0 \times 10^{-1}$ | $\leq 1,0 \times 10^{-1}$ | $< 1,0 \times 10^{-1}$ | $< 1,0 \times 10^{-1}$ |
| A1B1C3 Blanca- sin especias | $4,8 \times 10^{-2}$ | 3×10^2 | $< 1,0 \times 10^{-1}$ | $\leq 1,0 \times 10^{-1}$ | $< 1,0 \times 10^{-1}$ | $1,36 \times 10^3$ |
| A1B2C1 Morena-tomillo | $\leq 1,0 \times 10^{-1}$ | $2,8 \times 10^3$ | $< 1,0 \times 10^{-1}$ | $1,4 \times 10^3$ | $< 1,0 \times 10^{-1}$ | $< 1,0 \times 10^{-1}$ |
| A1B2C2 morena-romero | $2,7 \times 10^3$ | $< 1,0 \times 10^{-1}$ | $< 1,0 \times 10^{-1}$ | $\leq 1,0 \times 10^{-1}$ | $< 1,0 \times 10^{-1}$ | $< 1,0 \times 10^{-1}$ |
| A1B2C3 Morena-sin especias | N.e = 30 | N.e = 20 | N.e = 20 | $\leq 1,0 \times 10^{-1}$ | $< 1,0 \times 10^{-1}$ | 20×10^1 |

| | | | | | | |
|--------------------------------------|-----------------------|----------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| A1B3C1 Panela-tomillo | 2,7x10 ² | N.e =5 | <1,0 x 10 ⁻¹ | ≤1,0 x 10 ⁻¹ | <1,0 x 10 ⁻¹ | <1,0 x 10 ⁻¹ |
| A1B3C2 Panela-romero | N.e = 35 | N.e = 20 | <1,0 x 10 ⁻¹ | ≤1,0 x 10 ⁻¹ | <1,0 x 10 ⁻¹ | <1,0 x 10 ⁻¹ |
| A1B3C3 Panela-sin especias | 2,0 x 10 ³ | N. e=68 | <1,0 x 10 ⁻¹ | ≤1,0 x 10 ⁻¹ | <1,0 x 10 ⁻¹ | <1,0 x 10 ⁻¹ |

Elaborado por: Moreira C. & Zambrano L. 2019

7.6 Resultados análisis de actividad antioxidante (Concentración en M/ml)

Durante las dos primeras etapas de fermentación, los resultados de las muestras no presentaron diferencia significativa entre sí, **VER TABLAS 14 y 15**, presentándose a los 35 días de fermentación alta diferencia entre las primeras muestras, las cuales destacan: A3B2C3 (A. morena-sin especias), A3B1C2 (A. morena-romero) Y A3B3C3 (Panela-sin especias), con los valores más altos. **(VER TABLAS 14 y 15)**

Aunque los valores obtenidos a los 15 y 25 días fueron inferiores a los de la última etapa fermentativa, los valores más altos fueron los de las muestras A3B1C1: A. Blanca-tomillo y A3B3C2 Panela-Romero.

A pesar de que el romero y el tomillo son plantas con altos valores antioxidantes por ser ricas en compuestos polifenoles, no intervienen considerablemente en el aumento de la actividad antioxidante en las muestras estudiadas a excepción de las muestras A3B1C2 (A. blanca-romero) y A3B3C2 (Panela-romero), las cuales se encuentran entre las que presentaron valores altos debido a que la actividad antioxidante del romero se incrementa conforme el pH disminuye, debido a su composición química. (Alvia et al 2011).

La no intervención de las propiedades de las especias en el aumento de los valores de la actividad antioxidante de las muestras, podría deberse según (Gallego, 2016) a que otros procesos de extracción mejoran los resultados de

actividad antirradicalaria. Por ejemplo, la extracción asistida por microondas y por ultrasonidos optimizan la cantidad extraída de compuestos antioxidantes del romero además se conoce que la actividad antioxidante del extracto de tomillo medida por el ensayo FRAP es más efectiva usando una extracción presurizada, comparado a una extracción sólida/líquida. (Gallego 2016)

15 DÍAS

Análisis de la varianza

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=13,90202

Error: 23,6131 gl: 18

TABLA N. 14 Análisis varianza (actividad antioxidante, 15 días) (M/ml)

| tratamientos | Medias | n | E.E. | | |
|--------------|--------|---|------|---|--|
| A1B1C1 | 9,73 | 3 | 2,81 | A | |
| A1B3C3 | 8,30 | 3 | 2,81 | A | |
| A1B3C2 | 5,46 | 3 | 2,81 | A | |
| A1B3C1 | 4,04 | 3 | 2,81 | A | |
| A1B2C1 | 1,19 | 3 | 2,81 | A | |
| A1B1C3 | 1,19 | 3 | 2,81 | A | |
| A1B2C2 | -0,23 | 3 | 2,81 | A | |
| A1B2C3 | -1,65 | 3 | 2,81 | A | |
| A1B1C2 | -1,65 | 3 | 2,81 | A | |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Elaborado por: Moreira C. & Zambrano L. 2019

25 DIAS

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=12,87077

Error: 20,2398 gl: 18

TABLA N. 15 Análisis varianza (actividad antioxidante, 25 días) (M/ml)

| tratamientos | Medias | n | E.E. | | |
|--------------|--------|---|------|---|--|
| A2B3C2 | 12,57 | 3 | 2,60 | A | |
| A2B1C2 | 11,15 | 3 | 2,60 | A | |
| A2B2C2 | 6,88 | 3 | 2,60 | A | |
| A2B2C1 | 6,88 | 3 | 2,60 | A | |
| A2B1C1 | 5,46 | 3 | 2,60 | A | |
| A2B3C1 | 5,46 | 3 | 2,60 | A | |
| A2B1C3 | 5,46 | 3 | 2,60 | A | |
| A2B2C3 | 2,61 | 3 | 2,60 | A | |
| A2B3C3 | -0,23 | 3 | 2,60 | A | |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Elaborado por: Moreira C. & Zambrano L. 2019

35 DIAS

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=26,89550

Error: 88,3805 gl: 18

TABLA N. 16 Análisis varianza (actividad antioxidante, 35 días)(M/ml)

| tratamientos | Medias | n | E.E. | | | |
|--------------|--------|---|------|---|----|---|
| A3B2C3 | 79,44 | 3 | 5,43 | A | | |
| A3B1C2 | 38,18 | 3 | 5,43 | | B | |
| A3B3C3 | 23,95 | 3 | 5,43 | | BC | |
| A3B3C2 | 21,11 | 3 | 5,43 | | BC | |
| A3B2C1 | 9,73 | 3 | 5,43 | | C | D |
| A3B1C1 | 8,30 | 3 | 5,43 | | C | D |
| A3B1C3 | 8,30 | 3 | 5,43 | | C | D |
| A3B2C2 | 4,04 | 3 | 5,43 | | C | D |
| A3B3C1 | -8,77 | 3 | 5,43 | | | D |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Elaborado por: Moreira C. & Zambrano L. 2019

7.7 Resultados análisis sensorial en muestras con diferencia significativa en actividad antioxidante

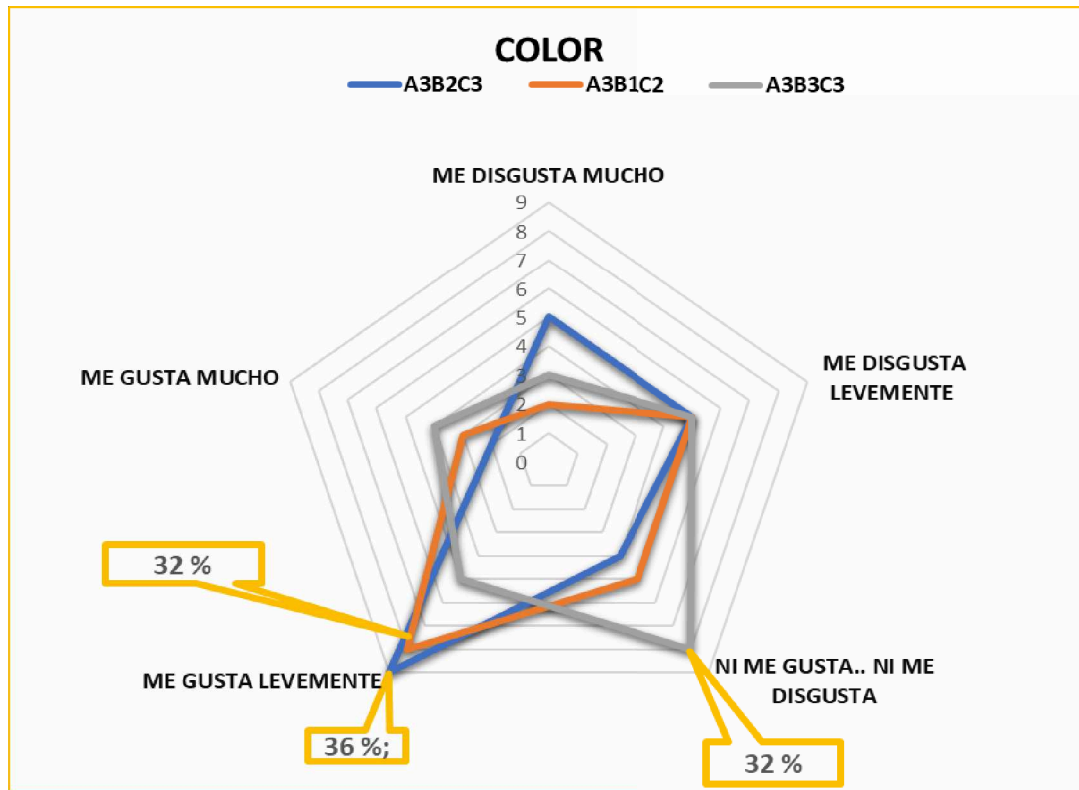
Dentro del análisis sensorial aplicado a 25 personas para determinar la aceptabilidad de las muestras aplicado a aquellas que presentaron diferencias significativas en su actividad antioxidante: muestra A3B2C3 = (A. morena-sin especias) = 79,44 M/ml; muestra A3B1C2 (A. morena-romero) 38,18 M/ml y muestra A3B3C3 (Panela-sin especias) =23,95 M/ml.

- **Resultados aceptabilidad de color:**

La muestra que obtuvo mayor aceptabilidad de color fue la A3B2C3, elaborada con azúcar morena y sin especias, la cual fue escogida por una gran parte de los panelistas debido a que sus características visuales fueron más atractivas, a diferencia de las muestras A3B1C2 (A.blanca-romero) y A3B3C3 (panela-sin especias), determinando que las muestras antes mencionadas contienen cierto grado de turbiedad, debido a las impurezas que puedan liberar las especias, también el color de sacarosa juega un papel importante, ya que la panela en su forma natural se presenta de color oscura. **VER GRÁFICO N.1**

Además, podemos recalcar que la NTE INEN 2296, establece que el vinagre debe estar exento de turbiedad e impurezas, por lo que los panelistas optaron por una muestra que si cumple con la perspectiva de la norma antes mencionada

GRAFICO N. 1; Cuadro de interpretación de los resultados de análisis sensorial de vinagre de kombucha, PARÁMETRO: COLOR

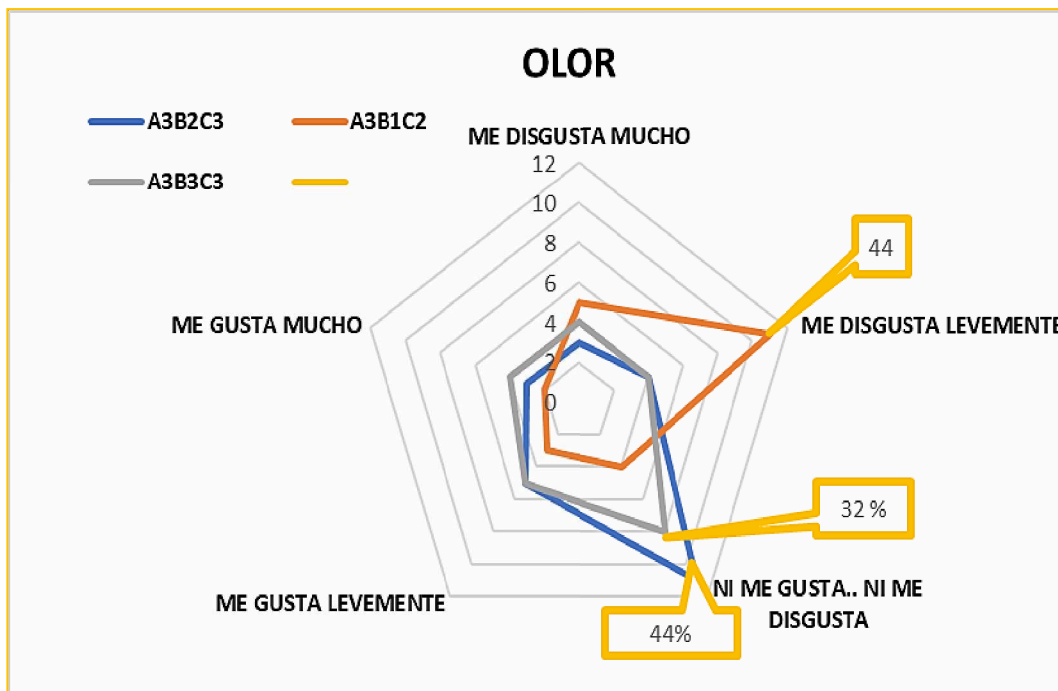


Elaborado por: Moreira C. & Zambrano L. 2019

- **Resultados aceptabilidad de olor:**

Lo panelistas se inclinaron por dos de las muestras seleccionadas através de la actividad antioxidante, una de ellas la A3B2C3, elaborada con azúcar morena y sin especias, siendo de mucho agrado ya que su olor característico avinagrado, se presenta gracias al consorcio de bacterias y levaduras, que acentúan el olor ácido debido a sus días de fermentación. (Illana 2007). Otra de las muestras con mayor porcentaje de aceptabilidad fue la A3B1C2, elaborada con azúcar blanca y romero, se muestra que también fue de mucho agrado para los panelistas, por las características organolépticas que presentan las especias, debido a que el romero presenta aceites esenciales, muy característico de la planta, y que además resaltan en el vinagre. (Alvia et al. 2011) **VER GRAFICO N. 2**

GRAFICO N. 2 cuadro de interpretación de los resultados de análisis sensorial de vinagre de kombucha, PARÁMETRO: OLOR



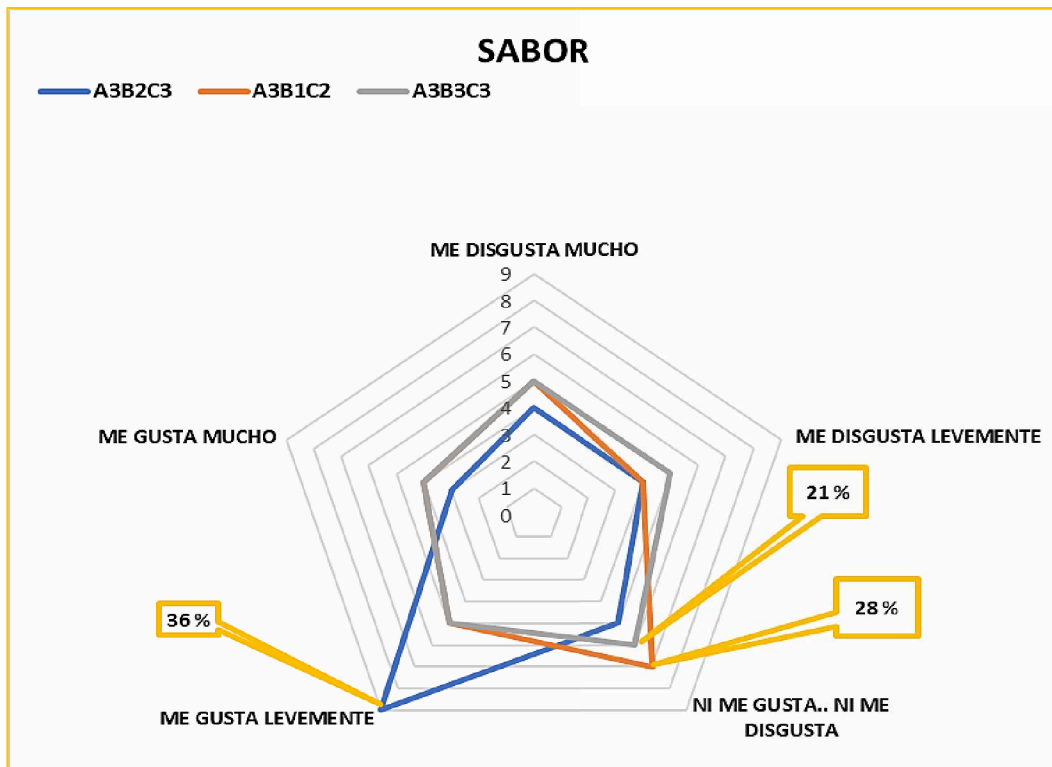
Elaborado por: Moreira C. & Zambrano L. 2019

- **Resultados aceptabilidad de sabor:**

La muestra A3B2C3, elaborada con azúcar morena y sin especias, fue la que obtuvo mayor aceptación, dando a conocer que los panelistas se inclinaron por aquella que presentaba un sabor altamente avinagrado, gracias a que sus características organolépticas las sostuvo durante todo el proceso de fermentación, siendo un líquido puro y sin ningún otro tipo de partículas sólidas que puedan alterar el producto. (Illana 2007). Además, podemos mencionar que la muestra A3B1C2, no fue de agrado, debido al contenido de especias dentro del líquido, ya que el romero al igual que las plantas contiene aceites esenciales lo que le daría una sensación de agriura al vinagre. (Alvia et al. 2011). También la falta de dulzura pudo ser de no agrado para los panelistas ya que la muestra A3B3B3, fue la que menos porcentaje obtuvo, en el cual se utilizó como sacarosa la panela, por lo que sus características de dulzura son muy bajas, permitiendo que las características de dulzor se pierdan durante la fermentación. (Bernal 2010)

VER GRÁFICO N. 3

GRAFICO N. 3 Cuadro de interpretación de los resultados de análisis sensorial de vinagre de kombucha, PARÁMETRO: SABOR



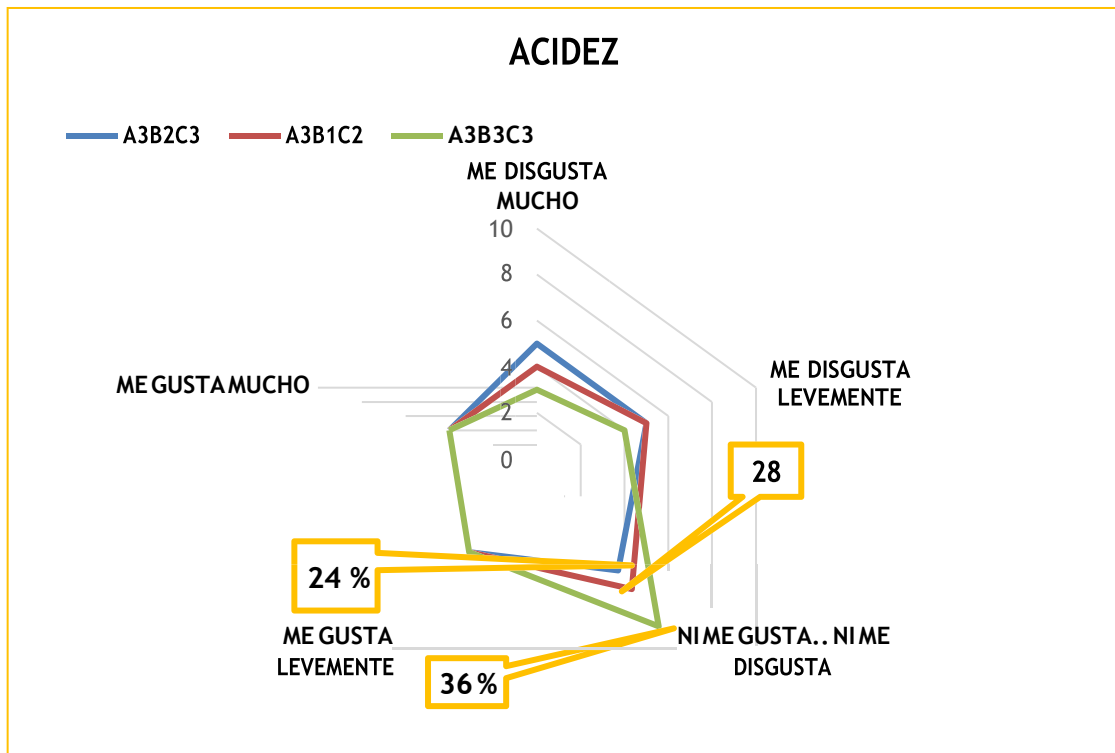
Elaborado por: Moreira C. & Zambrano L. 2019

- **Resultados aceptabilidad de acidez:**

La muestra A3B2C3 elaborado con A. morena-sin especias, tiene una considerable aceptación por los panelistas, ya que el vinagre presenta una alta acidez en comparación a las demás muestras analizadas, cuya característica acida se demuestra por las propiedades de la kombucha y además por tiempo de fermentación que presenta la misma, es decir que mayor tiempo de fermentación, mayor será el porcentaje de acidez en la bebida. Mencionamos además que dentro del consorcio existen bacterias ácidas que genera ciertos ácidos orgánicos que son los que dan esa pequeña acidez como el ácido acético, ácido gálico, ácido glucurónico, etc. En el grafico también podemos observar que la muestra que obtuvo menor aceptación fue A3B3C3, la cual fue endulzada con panela, mostrando en si la poca aceptación debido a que la sacarosa utilizada, probablemente no permitiera una fermentación adecuada y el porcentaje de acidez no fuera desarrollada correctamente, es decir que mayor cantidad de sacarosa, mayor será la cantidad de acidez en té de kombucha. (Morales 2014).

VER GRAFICO N. 4.

GRAFICO N. 4 Cuadro de interpretación de los resultados de análisis sensorial de vinagre de kombucha, **PARÁMETRO: ACIDEZ**



Elaborado por: Moreira C. & Zambrano L. 2019

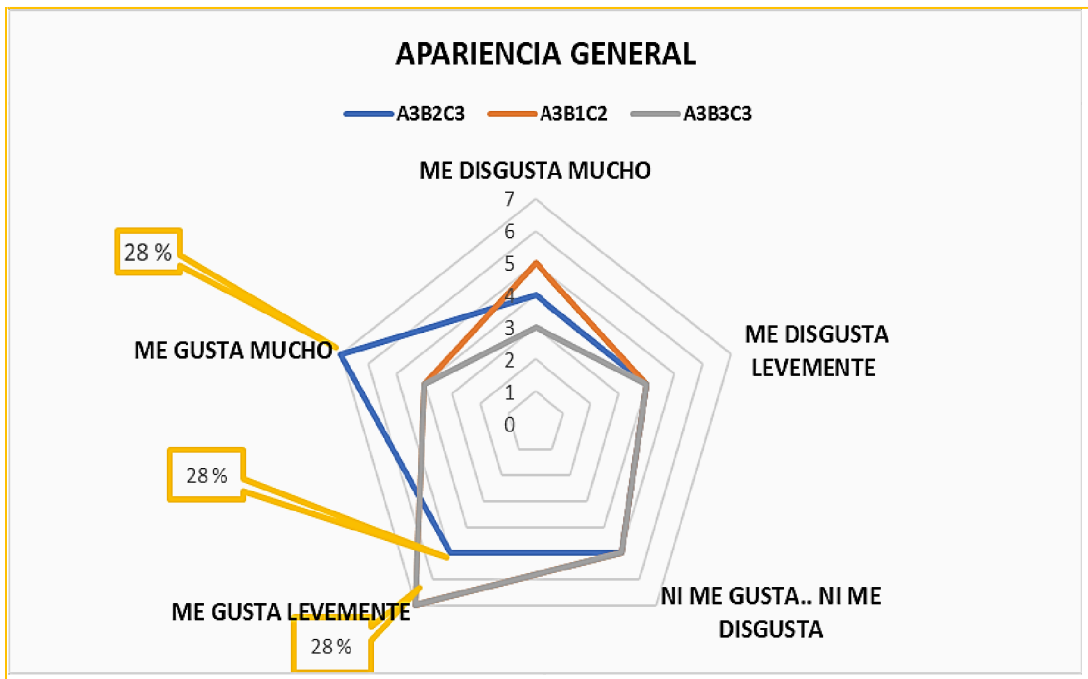
- **Resultados aceptabilidad apariencia general:**

La apariencia general también se evaluó dentro del análisis sensorial, el cual los panelistas optaron por la mejor muestra que ellos hayan observado y degustado, la muestra (A3B2C3) lidera el porcentaje de aceptabilidad, demostrando que este vinagre a base de azúcar morena y sin especies, tiene una excelente acidez, olor, color y sabor, dando a conocer que algunas de estas características cumplen requisitos de la NTE INEN-2296.

En cuanto a las dos muestras restantes, fueron calificadas con bajos porcentajes, debido a que no cumplen con las perspectivas de los panelistas, debido a que presentaron turbiedad, aroma poco agradable, sabores indecibles y baja acidez, a diferencia de la muestra aceptable que fue escogida de forma unánime. **VER GRÁFICO N. 5**

GRÁFICO N. 5

GRAFICO N. 5 Cuadro de interpretación de los resultados de análisis sensorial de vinagre de kombucha, PARÁMETRO: APARIENCIA GENERAL



Elaborado por: Moreira C. & Zambrano L. 2019

7.8 Resultados comparación actividad antioxidante entre vinagres de kombucha y vinagres comercializados en la ciudad de Manta: (Concentración en M/ml)

En la **TABLA 17**. Observamos la comparación de las muestras de vinagre de kombucha con mejor actividad antioxidante y los vinagres comercializados en la ciudad de Manta, el cual nos demuestra que los tratamientos que presentaron mayor actividad antioxidante fueron:

- A3B2C3 (A. morena-sin especias) = 79.44 M/ml,
- la muestra A3B1C2 (A. blanca-romero) presentó= 38,8 M/ml
- seguido de la muestra A3B3C3(panela-sin especias) con= 23,95 M/ ml,

Dichos valores superan considerablemente a los valores que presentan los vinagres comercializados en la ciudad de Manta, cuyos valores fueron: vinagre comercial con especias =18,26 M/ ml, y vinagre blanco = -1,66 M/ ml.

El vinagre de kombucha es un alimento con propiedades antioxidante, considerándose como un alimento funcional o saludable, Según la NTE INEN 2587:2011 el cual confirma que puede contribuir a reducir o prevenir el riesgo de enfermedades. **(VER TABLA 17)**

Análisis de la varianza

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=13,88629
Error: 26,7046 gl: 10

TABLA N. 17 Comparación de actividad antioxidante: vinagres de kombucha(M/ml)

| TRATAMIENTOS | Medias | n | E.E. | | |
|-----------------|--------|---|------|---|---|
| A3B2C3 | 79,44 | 3 | 2,98 | A | |
| A3B1C2 | 38,18 | 3 | 2,98 | | B |
| A3B3C3 | 23,95 | 3 | 2,98 | | C |
| V. CON ESPECIAS | 18,26 | 3 | 2,98 | | C |
| V. BLANCO | -1,66 | 3 | 2,98 | | D |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)
Elaborado por: Moreira C. & Zambrano L. 2019

VIII. CONCLUSIONES

- Los valores de pH disminuyeron a medida que la fermentación aumentó cuyo valor más alto fue 3,30 a los 35 días ya que entre mayor el tiempo de fermentación la glucosa y fructosa proveniente de la transformación de la sacarosa se degradan en ácidos orgánicos de baja cadena carbonada como ácido acético, también deducimos que en aquellas muestras que tienen un pH bajo (condiciones ácidas) se detiene el desarrollo de bacterias. Los resultados que se obtuvieron tienen relación a los rangos óptimos establecido en la norma INEN 2296-2003 la cual señala parámetros entre (2,3 – 2,8).
- En cuanto a la acidez, en los vinagres con especias esta fue aumentando con el paso de los días de fermentación llegando hasta un máximo de 3,64 el cual indica que una cantidad de azúcar considerable ha sido degradada por los microorganismos de la kombucha, los valores obtenidos se encuentran muy cercanos a los valores reflejados en la normativa (Acidez total % m/v = (4-6)).
- Evaluándose también su calidad higiénica sanitaria a los 35 días de fermentación, donde todas las muestras estuvieron exentas de microorganismos (Aerobios Mesófilos y Mohos y Levaduras) tal como lo exige la normativa. Los microorganismos para su desarrollo necesitan de energía química ATP, la misma que es obtenida a partir del azúcar, por ende, a medida que la fermentación avanza los microorganismos se van reduciendo a la mínima cantidad posible.
- Los porcentajes de los niveles de alcohol descendieron por debajo de 1,0 a medida que la fermentación se desarrolló, dichos valores están relacionados con los resultados de acidez que fueron aumentando ya que el etanol presente se oxida para generar ácido acético (fermentación acética) los valores obtenidos de alcohol entran en el rango establecido en la norma INEN 2296-2003: Alcohol etílico a 20 C % v/v = (– 1,0),

- En la evaluación de actividad antioxidante los resultados indicaron que el uso de especias no influye en el aumento de la actividad antioxidante, ya que los resultados óptimos de las cantidades extraídas de compuestos antioxidantes se obtienen mediante métodos como extracción presurizada y ensayos FRAP los porcentajes antioxidantes fueron mayores a medida que sus días de fermentación aumentaron, a los 35 días de fermentación se obtuvo el valor más alto = 79,44 M/ml,
- La aceptabilidad de las características sensoriales de la muestra desarrollada con: A.morena sin especias se debe a la presencia de minerales y la manera natural de obtención de la azúcar morena, libre de procesos de refinamiento en los cuales se pierden ciertas sustancias naturales como mieles naturales y sabores característicos de la miel de caña y que confieren características sensoriales adicionales ausentes en otros tipos de azúcar.
- Los valores de actividad antioxidante de los vinagres de kombucha que presentaron diferencias significativas, superan considerablemente los valores de los vinagres comercializados en la ciudad de Manta y de acuerdo a sus características estudiadas se considera un alimento funcional o saludable y que consumido en cantidades adecuadas contribuyen al desarrollo de las funciones fisiológicas normales.
- Respondiendo la hipótesis planteada en el presente trabajo de investigación, el vinagre a base de (*Manchuriam fungus*) presenta capacidad antioxidante, la cual es superior a los vinagres comerciales.

IX. RECOMENDACIONES

- Prolongar los días de fermentación, para que las bacterias Acetobacter desdoblén mayor cantidad de azúcar y así generar la disminución de su pH, aumentando su acidez.
- Aplicar algún método de clarificación mediante el cual las características visuales del vinagre del té de kombucha mejoren.
- Se recomienda realizar un estudio acerca de la cuantificación de compuestos polifenólicos de los vinagres de kombucha con y sin especias.
- También se recomienda alguna investigación el cual demuestre las características de vinagres de kombucha frente a diferentes concentraciones de té negro, sacarosa y especias.

X. BIBLIOGRAFIA

1. A.O.A.C. (1980). Official methods of Analysis. 16 th Edition. Association of official Analytical Chemists. Washington D.C; USA.
2. AOAC (1990). Official Methods of Analysis. 15ª th Edition. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC, EEUU. 1 298 pp.
3. AOAC. (1984). Official Methods of Analysis of official analytical chemists international. 14th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
4. Alvia, R; Navarro, A; Vera, O; Dávila, R; Melgoza, N; Meza, R. 2011. Romero (*Rosmarinus officinalis* L.): una revisión de sus usos no culinarios. Ciencia y Mar 43(15):23-36
5. Arnao, I; Seminario, J; Cisneros, R; Trabucco, J. 2011. Potencial antioxidante de 10 accesiones de yacón, *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson, procedentes de Cajamarca - Perú. Scielo 72(4): 239-243.
6. Battikh, H; Bakhrouf, A; Ammar, E. 2012. Antimicrobial effect of Kombucha analogues. Food Science and Technology 47(1): 71-77.
7. Bernal, J. 2010. Estandarización de la Etapa de Cocimiento en el Proceso de Elaboración de Panela en Bloque en una Industria Azucarera. Tesis Ing. Alimentos, Ecuador, ESPOL. 3 P.
8. Caicedo, MF; Pico, MC. 2017. Efecto antibacteriano del té Manchurian fungus sobre cepas de *Streptococcus mutans*. Estudio in vitro. Tesis Odont. Quito, Ecuador, UCE. 74 P.
9. Carrera, F. 2016. El vinagre, el limón y la sal agravan los daños al ingerir mango verde en la calle (entrevista). Guayaquil, Ecuador. Hospital de Niños Francisco de Icaza Bustamante.
10. Catania, C; Avagninca, S. 2007. El análisis sensorial. En Curso Superior de Degustación de vinos EEA Mendoza. Mendoza, Argentina. 26 p.

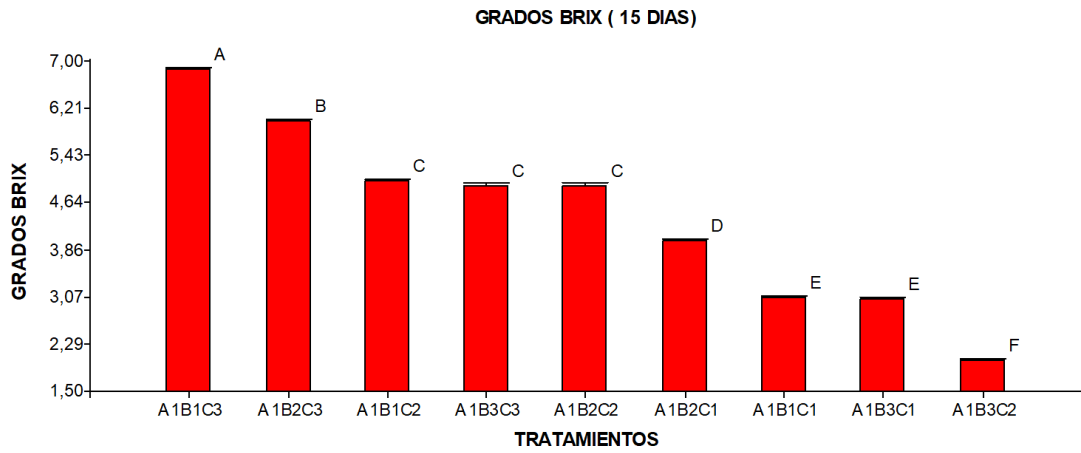
11. COGUANOR (Comisión Guatemalteca de Normas). 2011. Comisión Guatemalteca de Normas 34185. Ciudad de Guatemala, Guatemala.
12. Córdova, JB; Lara, A; Barquera, S; Rosas, MH; Barriguete, J; Hernández, M; De León, ME; Aguilar, C. 2008. Las enfermedades crónicas no transmisibles en México: sinopsis epidemiológica y prevención integral. Salud Pública de México 50(5): 419-427.
13. Coronado, M; Vega, León, S; Gutiérrez, R; Vázquez, M; Radilla, C. 2015. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. Revista chilena de nutrición 42(2): 206-212.
14. De Ory, I; Romero, L; Cantero, D. 2002. Optimum starting-up protocol of a pilot plant scale acetifier for vinegar production. Journal of Food Engineering 52(1): 31-37.
15. El telégrafo. 2016. El vinagre, el limón y la sal agravan los daños al ingerir mango verde en la calle. El Telégrafo, Guayaquil, Ecuador; 11 nov.:2.
16. García, M. 2014. Análisis sensorial de alimentos. Pádi Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías del ICBI. 2(3).
17. Gallejo, M. 2016. Estudio de la actividad antioxidante de diversas plantas aromáticas y/o comestibles. Tesis Doctoral. Ing Procesos Químicos. Barcelona, España, UPC. 25-178 p.
18. Hernández, E. 2005. Evaluación sensorial. Primera Edición. Bogotá, Colombia. 128 p.
19. Illana, C. 2007. El Hongo Kombucha. Bol. Soc. Micol 31: 269-272.
20. Londoño, J. 2012. Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. Antioquia, Colombia, La Sallista. 129 p.
21. López Potes, MC; Chérrez Murrillo SA. 2005. Proyecto de inversión para la Elaboración y Comercialización del Vinagre de Guineo en la ciudad de Guayaquil. Tesis Ec. Guayaquil, Ecuador, ESPOL. 22-24 p.

22. Mercado, G; Carrillo, L. d; Wall, A; López, J. A; Álvarez, E. 2013. Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México. *Nutrición Hospitalaria* 28(1).
23. Morales, L. 2014. Desarrollo, elaboración y optimización bromatológica de una bebida de té negro fermentada a base de manchurian fungus (kombucha) y evaluación de su actividad como potencial alimento funcional. Tesis Bioquímico Farmacéutico, Ecuador, ESPOCH. 79-113 P.
24. Muñoz, L. 2002. *Plantas Medicinales y Aromáticas: Estudio, Cultivo y Procesado*. Madrid, España, Mundi-Prensa. 365 p.
25. Musa, O; Chalchat, J. 2008. Chemical composition and antifungal activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) oil from Turkey. *International Journal of Food Science and Nutrition* 59(7): 691-698.
26. Navarro, I; Periago, M; García, F. 2017. Estimación de la capacidad antioxidante de los alimentos ingeridos por la población española. *SciELO* 44(2): 183-188.
27. Qi, Z; Yang, H; Xia, X; Xin, Y; Zhang, L; Wang, W; Yu, X. 2013. A protocol for optimization vinegar fermentation according to the ratio of oxygen consumption versus acid yield. *Journal of Food Engineering* 116(2): 304- 309.
28. Reyes, KA. 2015. Cuantificación de vinagre obtenido de cáscara de piña por medio de fermentación alcohólica y acética, y su incidencia en la productividad, en una Empresa Guatemalteca. Tesis Mg. Ciudad de Guatemala, Guatemala, USCG. 30 p.
29. Rubio, A. 2010. *Té de Kombucha y sus beneficios para el sistema digestivo*. Cuenca, Ecuador, UPE. 20-25 p.
30. Sasikumar, J; Assevatham, S; Kumar, D. 2012. Studies on in vitro free radical scavenging activity of *Bixa orellana* L. bark extract. *Int J Oharm Sci* 4(2): 719-726

31. Schutz, H. 1971. Sources invalidity in the Sensory Evaluation of Food. Food Techn 34 (11).
32. Stevens, N. 2003. *La Kombucha: El té extraordinario*. Primera ed. Barcelona, España, Sirio. 55 p.
33. Tesfaye, W; Morales, M; Callejón, R; Cerezo, Ana; González, A; García M; Troncoso, A. 2010. Análisis Sensorial Descriptivo o del vinagre del vino: Procedimiento de degustación Y Fiabilidad de nuevos atributos. Sensory Studies 25(2): 216-230.
34. Vábková, J; Neugebauerová, J. 2010. Nutritional parameters of selected culinary herbs (Lamiaceae). Acta Agriculturae Serbica 4(2): 77-82.
35. Vargas, F. 2011. Elaboración de una bebida refrescante fermentando la simbiosis Kombucha con el objetivo de mejorar la calidad de vida de los consumidores de bebidas no alcohólicas. Tesis Ing. Ambato, Ecuador, UTA. 93 P.
36. Vargas, F. 2014. Romero, la hierba mágica que con su aroma aumenta la memoria. Emol, Santiago de Chile, Chile; 14 jul. Sp.
37. Xu, Q; Tao, W; Ao, Z. 2007. Antioxidant activity of vinegar melanoidins. Food Chemistry, 102(3): 841-849.

XI. ANEXOS

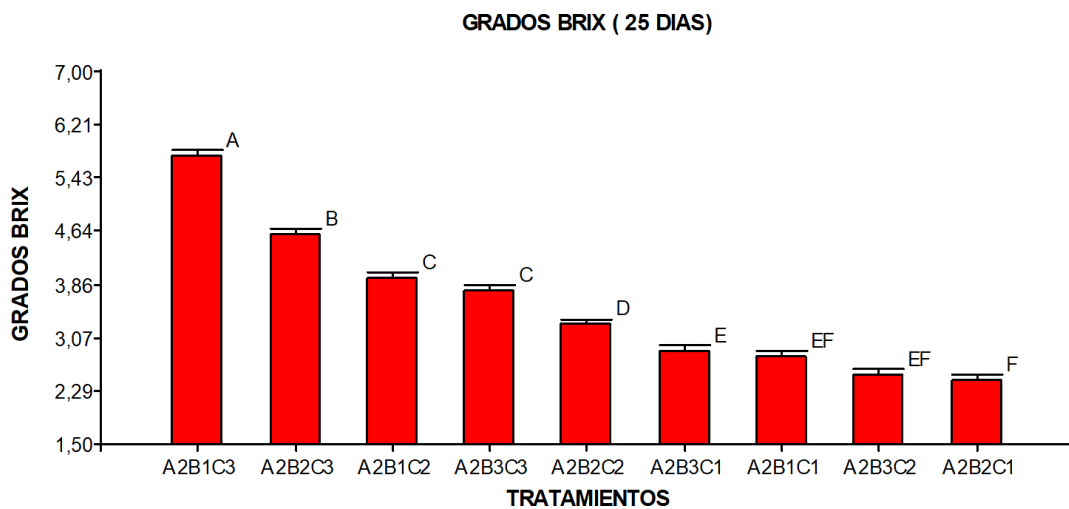
Grafico N°1 : Análisis varianza de los grados brix, 15 días



Elaborado por: Moreira C. & Zambrano L. 2019

ANEXO N. 2

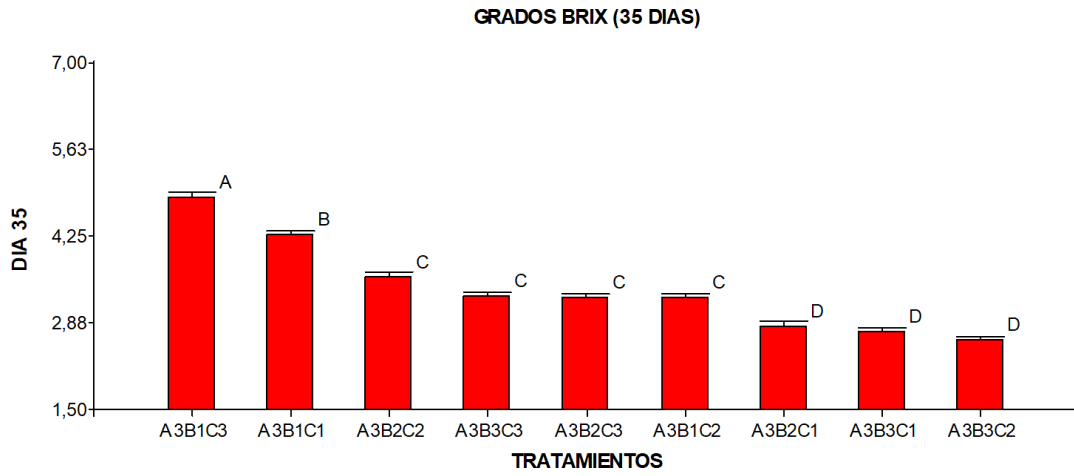
Grafico N°2: Análisis varianza de los grados brix, 25 días



Elaborado por: Moreira C. & Zambrano L. 2019

ANEXO N. 3

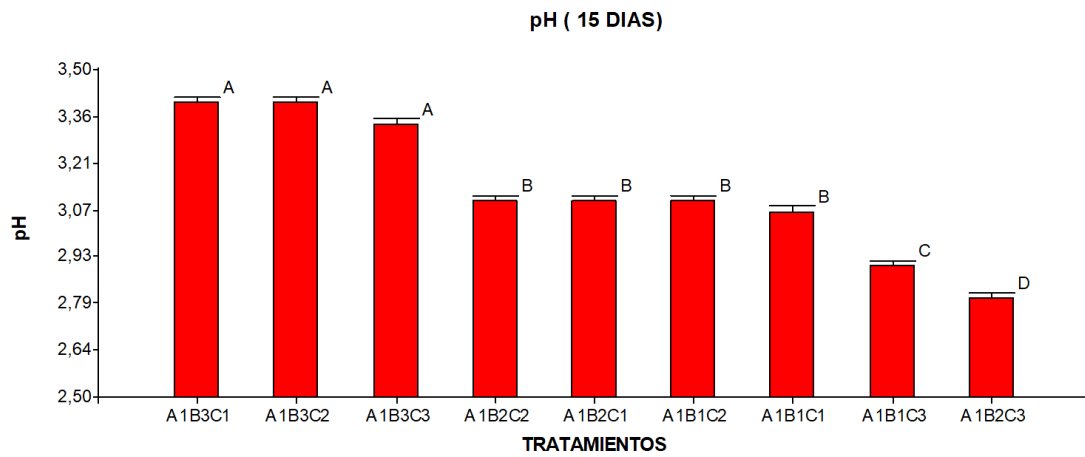
Grafico N°3: Análisis varianza de los grados brix, 35 días



Elaborado por: Moreira C. & Zambrano L. 2019

ANEXO N. 4

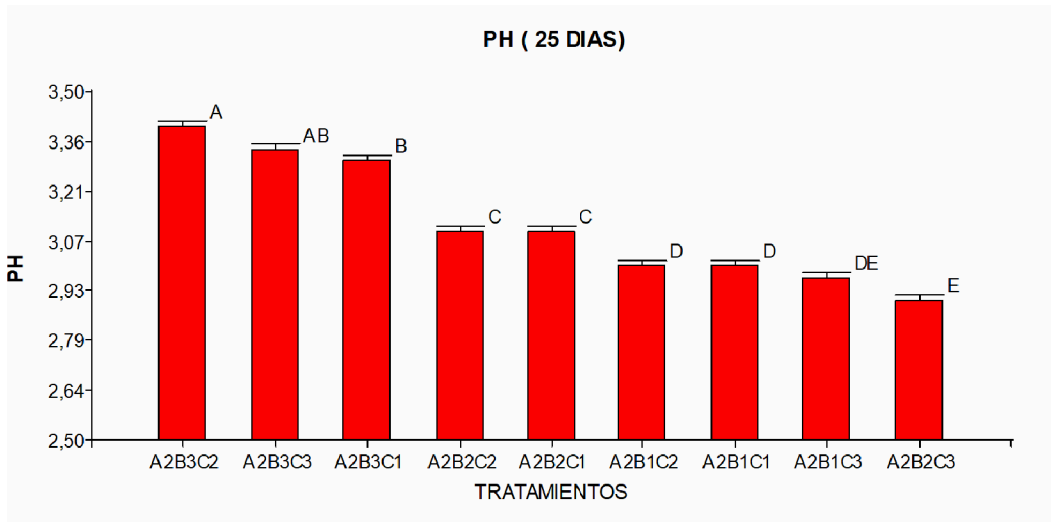
Grafico N°4: Análisis varianza valores de PH, 15 días



Elaborado por: Moreira C. & Zambrano L. 2019

ANEXO N. 5

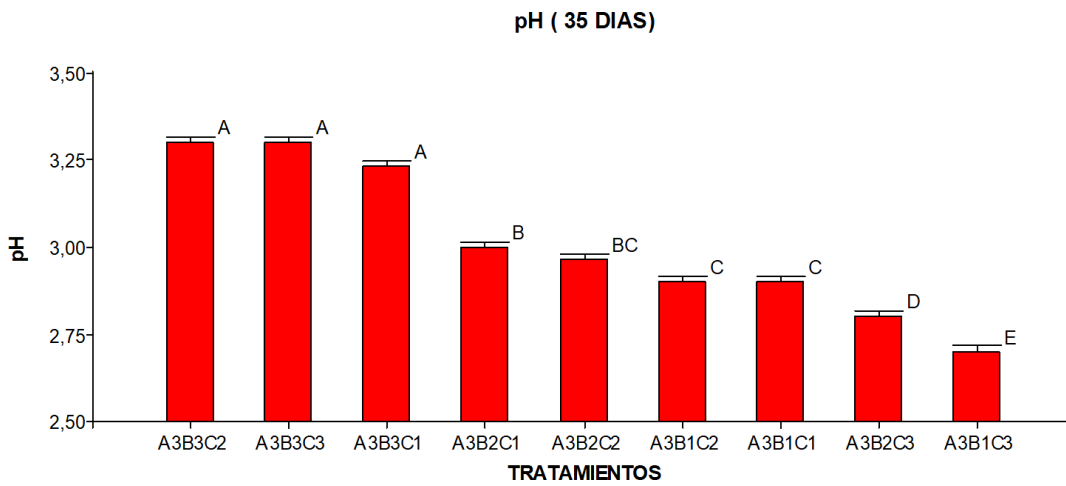
Grafico N°5: Análisis varianza valores de PH, 25 días



Elaborado por: Moreira C. & Zambrano L. 2019

ANEXO N. 6

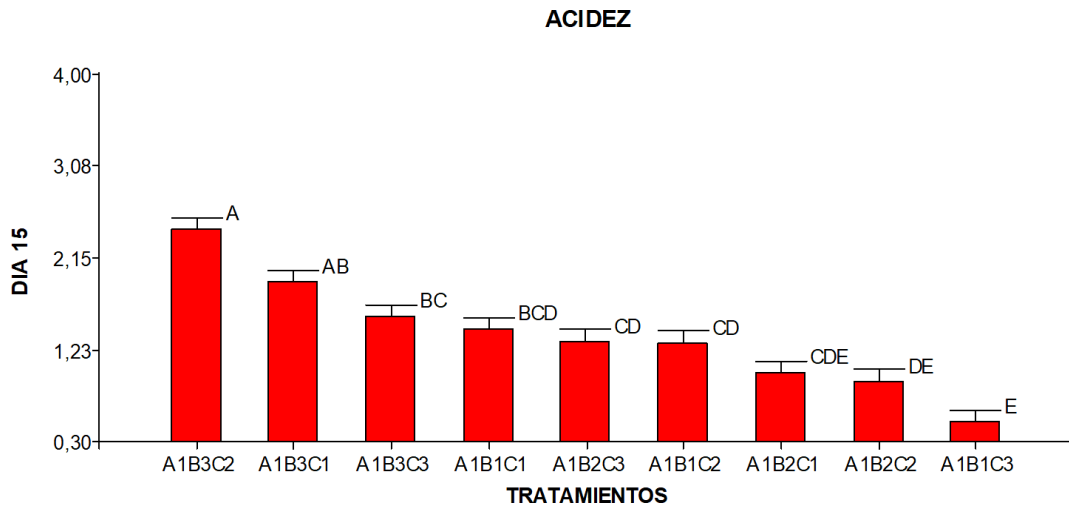
Grafico N° 6: Análisis varianza valores de PH, 35 días



Elaborado por: Moreira C. & Zambrano L. 2019

ANEXO N. 7

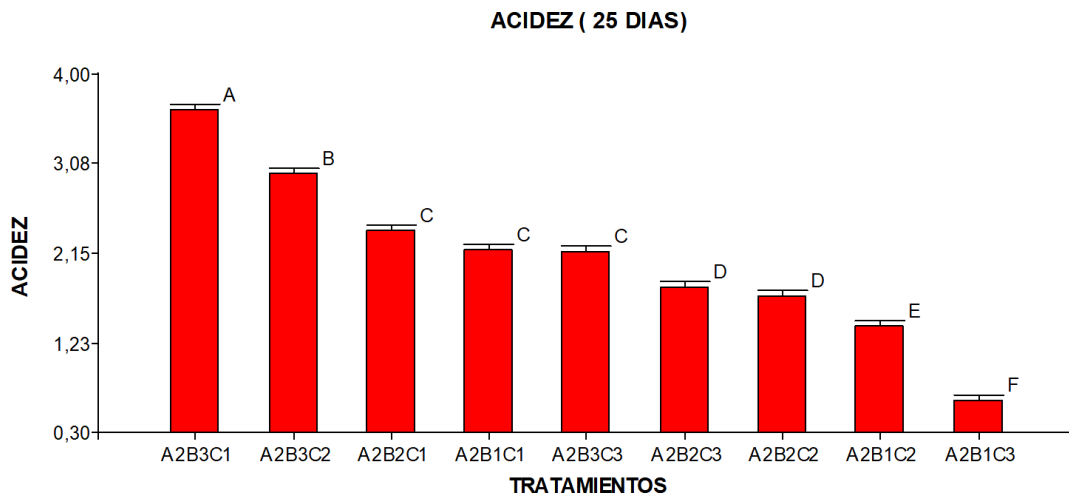
Grafico N° 7: Análisis varianza valores de acidez, 15 días



Elaborado por: Moreira C. & Zambrano L. 2019

ANEXO N. 8

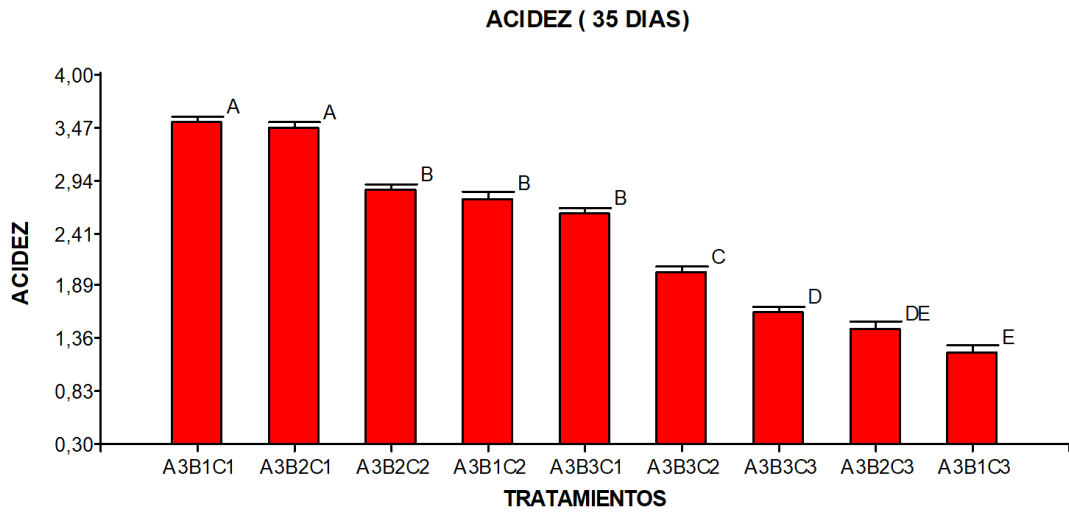
Grafico N° 8: Análisis varianza valores de acidez, 25 días



Elaborado por: Moreira C. & Zambrano L. 2019

ANEXO N. 9

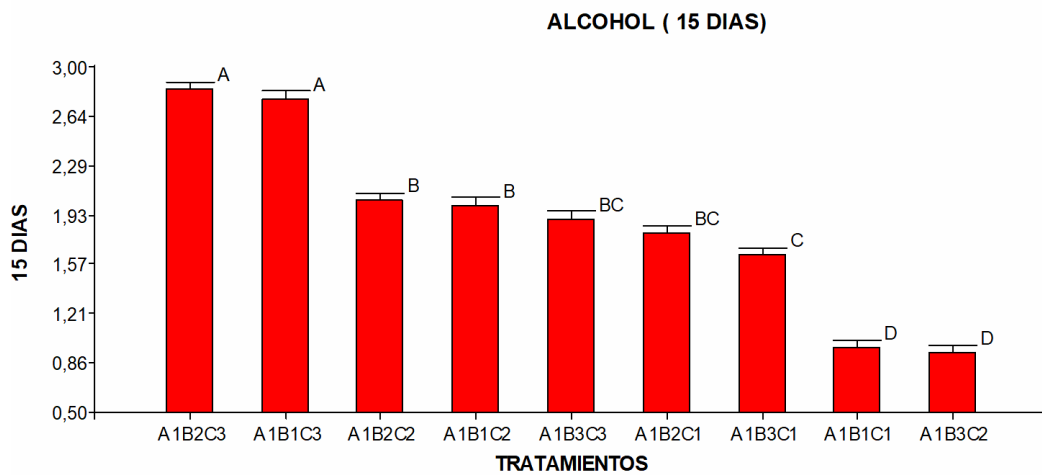
Grafico N° 9: Análisis varianza valores de acidez, 35 días



Elaborado por: Moreira C. & Zambrano L. 2019

ANEXO N. 10

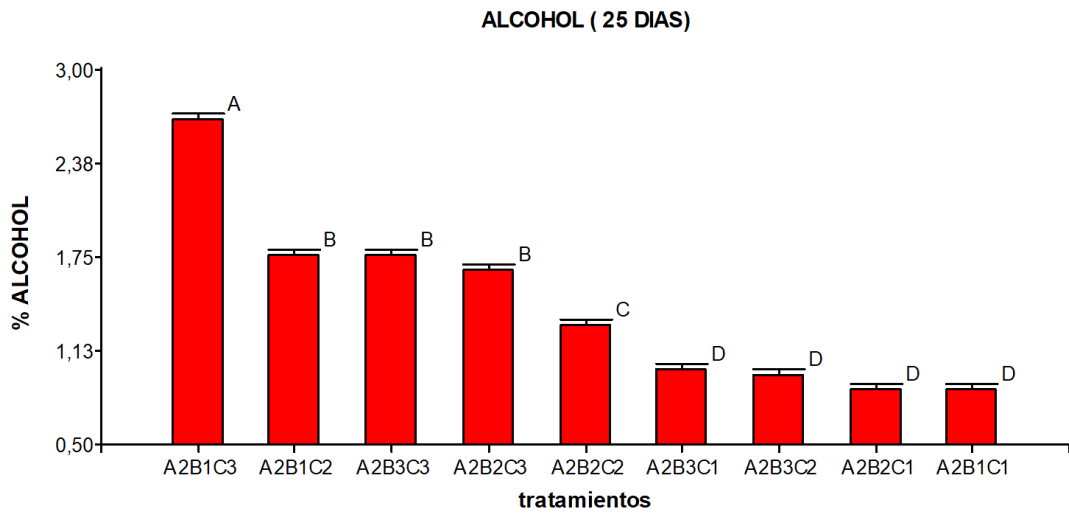
Grafico N° 10: Análisis varianza valores de % de alcohol ,15 días



Elaborado por: Moreira C. & Zambrano L. 2019

ANEXO N. 11

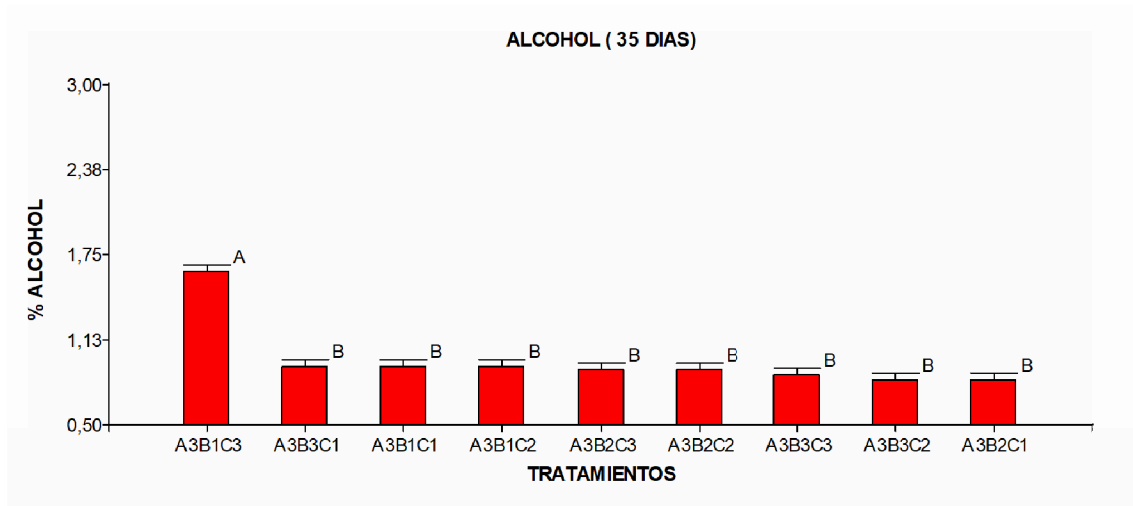
Grafico N° 11: Análisis varianza valores de % de alcohol ,25 días



Elaborado por: Moreira C. & Zambrano L. 2019

ANEXO N. 12

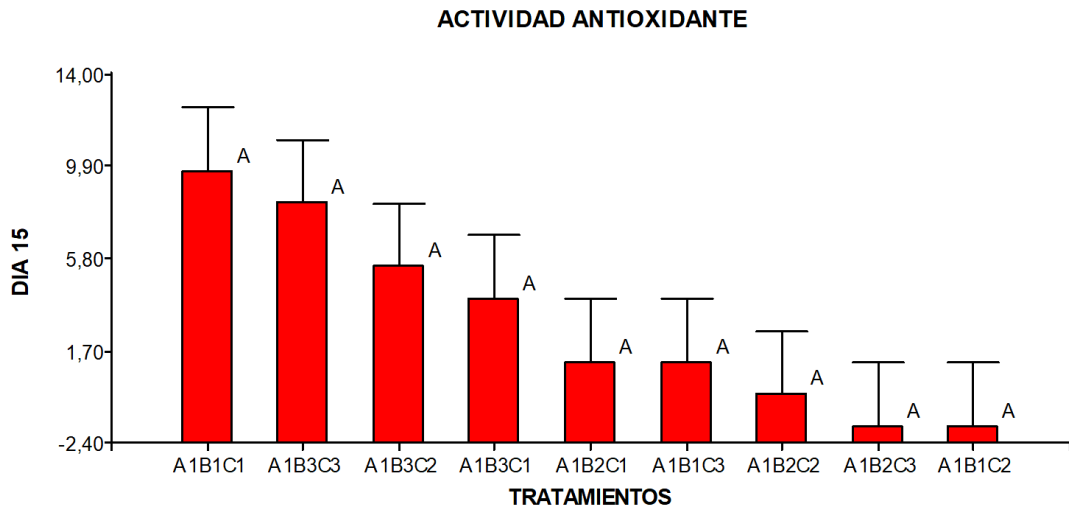
Grafico N° 12: Análisis varianza valores de % de alcohol ,35 días



Elaborado por: Moreira C. & Zambrano L. 2019

ANEXO N. 13

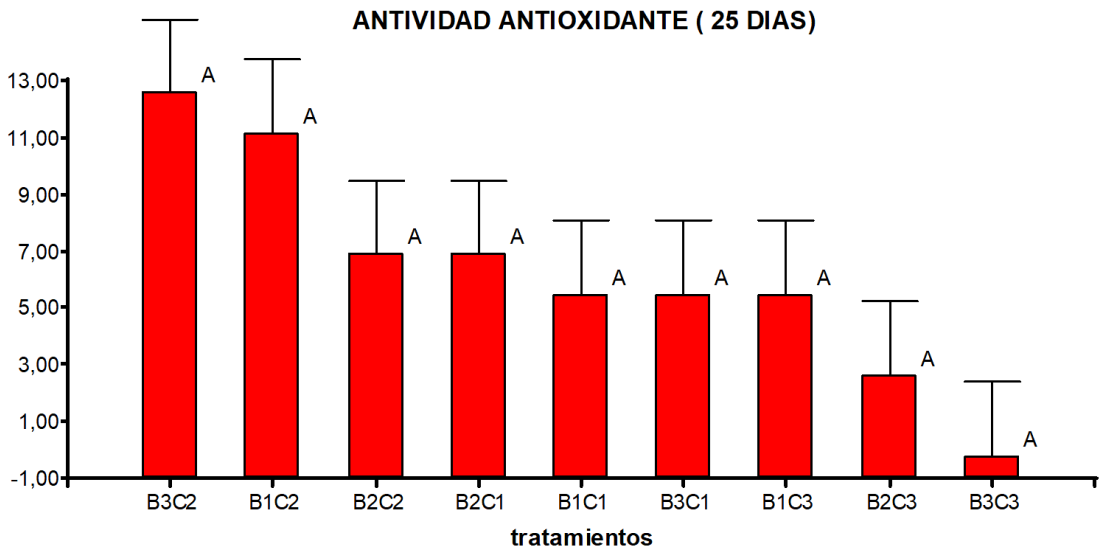
Grafico N° 13: Análisis varianza valores de actividad antioxidante 15 días



Elaborado por: Moreira C. & Zambrano L. 2019

ANEXO N. 14

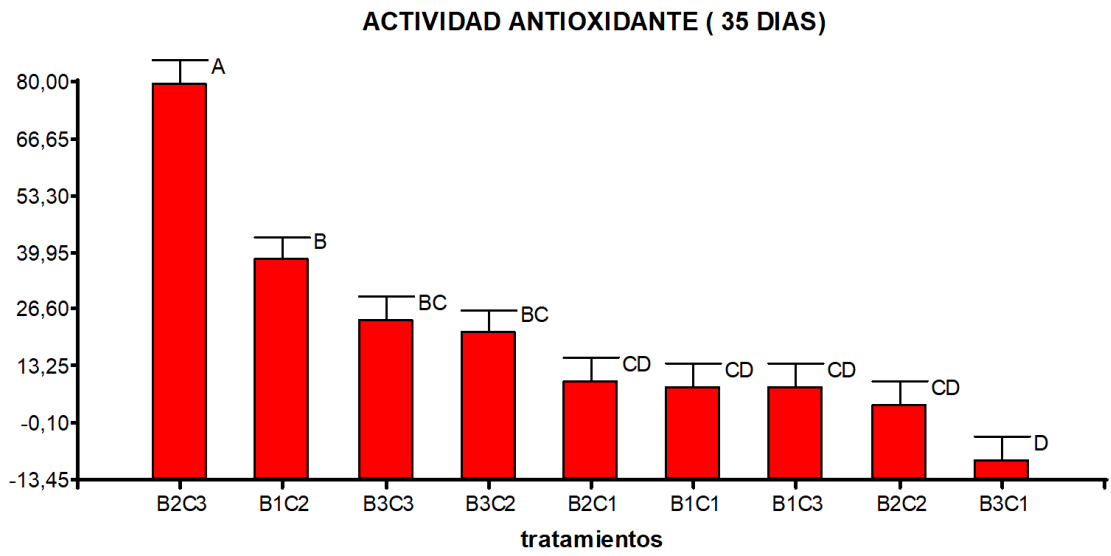
Grafico N° 14: Análisis varianza valores de actividad antioxidante 25 días



Elaborado por: Moreira C. & Zambrano L. 2019

ANEXO N. 15

Grafico N° 15: Análisis varianza valores de actividad antioxidante 35 días



Elaborado por: Moreira C. & Zambrano L. 2019

ANEXO N. 16

Proceso de elaboración del Té iniciador de Kombucha iniciador (madre)



Fig. 1 Ubicación de iniciador al Té Madre



Fig. 2 Iniciadores de Té de Kombucha Madre



Fig. 3 Elaboración de té negro (hijo)



Fig. 4 Cernido de té negro (hijo)



Fig. 5 Colocación de iniciador de té madre fermentado al té Hijo



Fig. 6 Colocación especias al té Hijo



Fig. 7 Colocación de película de kombucha al té hijo



Fig. 8 Té de Kombucha (Hijos)

ANEXO N. 17

Análisis físicos y microbiológicos del té de kombucha de 15, 25 y 35 de días de fermentación



Fig. 9: Cuantificación de Acidez



Fig. 10 Toma de datos de grados brix



Fig. 11 Cuantificación de Acidez y pH



Fig. 12 Toma de datos de grados de Alcohol



Fig. 13: Siembra de mohos y Aerobios



Fig. 14 Recuento de Aerobios



Fig. 15 Recuento de Mohos y Levaduras Madre



Fig. 16 Preparación del Radical Madre



Fig. 17 Toma de datos de la absorbancia al minuto 1 y al minuto 6



Fig. 18 Explicación del Análisis sensorial del vinagre del té de Kombucha.



Fig. 19 Evaluación de los diferentes tratamientos de vinagre de kombucha con mayor actividad antioxidante.

Anexo 17 Hoja de sondeo para el análisis sensorial y aceptabilidad de los vinagres a base té de Kombucha (*Manchurian fungus*).

PANELISTA:

FECHA:

PRUEBA DE ANÁLISIS SENSORIAL Y ACEPTABILIDAD

Pruebe, de izquierda a derecha, cada una de las muestras de vinagre que tiene frente a Usted. Las muestras están saborizadas con, A. Blanca, A. Morena, Panela; con o sin especias (Romero y Tomillo).

Evalué las muestras que se encuentran frente a usted, con sus respectivos atributos de color, olor, sabor, acidez y apariencia general, considerando la siguiente escala de 1-5 para cada una de ellas. Marque con una **X**.

1. Me disgusta mucho, **2.** Me disgusta levemente, **3.** Ni me gusta, ni me disgusta, **4.** Me gusta levemente, **5.** Me gusta mucho.

| A3B1C2 | | | | |
|--------|------|-------|--------|--------------------|
| COLOR | OLOR | SABOR | ACIDEZ | APARIENCIA GENERAL |
| | | | | |

| A3B2C3 | | | | |
|--------|------|-------|--------|--------------------|
| COLOR | OLOR | SABOR | ACIDEZ | APARIENCIA GENERAL |
| | | | | |

| A3B3C3 | | | | |
|--------|------|-------|--------|--------------------|
| COLOR | OLOR | SABOR | ACIDEZ | APARIENCIA GENERAL |
| | | | | |

Observaciones: _____

