



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

DIRECCIÓN DE POSGRADO

MAESTRÍA EN AGROINDUSTRIA CON MENCIÓN EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

MODALIDAD: INFORME DE INVESTIGACIÓN

Título:

BEBIDA FERMENTADA Y LIOFILIZADA DE FLORES DE JAMAICA (*HIBISCUS SABDARIFFA*)

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de magister en Agroindustria
con mención en Tecnología de Alimentos

Autor:

Rogel Barrezueta Jefferson Clemente, Ing.

Tutor

Morales Padilla María Monserrath, Ing. Mg.

Cotutora:

Villacres Poveda Clara Elena, PhD.

LATACUNGA – ECUADOR

2022 - 2023

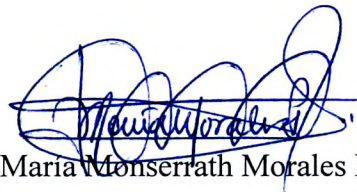
APROBACIÓN DEL TUTOR

En mi calidad de Tutor del Trabajo de Titulación “Bebida fermentada y liofilizada de flores de jamaica (*Hibiscus Sabdariffa L.*)”, presentado por Rogel Barrezueta Jefferson Clemente, para optar por el título Magister en Agroindustria con mención en Tecnología de Alimentos.

CERTFICO

Que dicho trabajo de investigación ha sido revisado en todas sus partes y se considera que reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometidos a la presentación para la valoración por parte del Tribunal de Lectores que se designe y su exposición y defensa pública.

Latacunga, 24 de enero del 2024



Mg. María Monserrath Morales Padilla

CC: 1803691144

APROBACIÓN TRIBUNAL

El trabajo de Titulación: “Bebida fermentada y liofilizada de flores de jamaica (*Hibiscus Sabdariffa L.*)”, ha sido revisado, aprobado y autorizada su impresión y empastado, previo a la obtención del título de Magister en Agroindustria con mención en Tecnología de Alimentos; el presente trabajo reúne los requisitos de fondo y forma para que el estudiante pueda presentarse a la exposición y defensa.

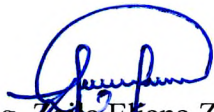
Latacunga, febrero, 16, 2024



Ing. Renato Agustín Romero Corral, Mg.

CC: 1717122483

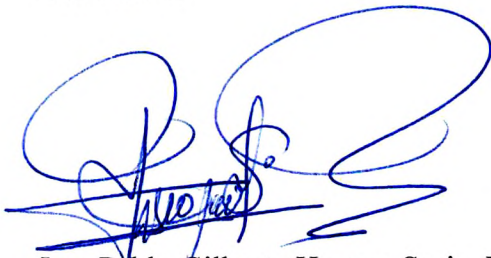
Presidente del tribunal



Ing. Zaira Eliana Zambrano Ochoa, Mg.

CC: 0501773931

Miembro 2



Ing. Pablo Gilberto Herrera Soria, Mg.

CC: 0501690259

Miembro 3

DEDICATORIA

A mis padres:

Clemente Rogel, mi inspiración, un ejemplo a seguir es un excelente padre.

Mi madre que siempre estuvo allí apoyándome Martha Barrezueta la que gracias a ello se hizo posible todo este logro.

A mis hermanos Edwin, Karen, Thalía Rogel Barrezueta.

A mis abuelitos:

Victor Rogel y Luz Robles mis queridos abuelitos siempre están allí para cualquier consejo incondicional.

Mi preciosa Luciana Rogel, mi hija querida mi amor incondicional.

Y a mi esposa gracias por estar en este proceso Lady Bravo gracias por todo.

Y como no agradecer a mis queridos amigos Ing. Edwin Cevallos y al Quim. Orlando Rojas mis grandes amigos gracias por su apoyo, sus consejos y por todo.

Rogel Barrezueta Jefferson Clemente

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Técnica de Cotopaxi, por la oportunidad de tener mi formación académica y por las facilidades que nos otorgó para poder culminar esta etapa de mi vida.

A mis docentes, que, con su amplia experiencia, nos compartieron todos los conocimientos que pudieron y que enriquecieron mi conocimiento.

A la institución INIAP, quienes me apoyaron para poder que se realice este trabajo de investigación.

Rogel Barrezueta Jefferson Clemente

RENUNCIA DE DERECHOS

Quien suscribe, cede los derechos de auditoría intelectual total y/o parcial del presente trabajo de titulación a la Universidad Técnica de Cotopaxi.

Latacunga, 24 de enero del 2024



Ing. Jefferson Clemente Rogel Barrezueta
CC: 0503410227

RENUNCIA DE DERECHOS

Quien suscribe, cede los derechos de auditoría intelectual total y/o parcial del presente trabajo de titulación a la Universidad Técnica de Cotopaxi.

Latacunga, 24 de enero del 2024



Ing. Jefferson Clemente Rogel Barrezueta
CC: 0503410227

AVAL DEL PRESIDENTE

Quien suscribe, declara que el presente Trabajo de Titulación: “Bebida fermentada y liofilizada de flores de jamaica (*Hibiscus Sabdariffa L.*)”, contiene las correcciones a las observaciones realizadas por los miembros del tribunal en la predefensa.

Latacunga, febrero, 16 2024



Ing. Renato Agustín Romero Corral, Mg.

CC: 1717122483

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

DIRECCIÓN DE POSGRADO

MAESTRIA EN AGROINDUSTRIA CON MENCIÓN EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Título: “Bebida fermentada y liofilizada de flores de jamaica (*Hibiscus Sabdariffa L.*)”

Autor: Rogel Barrezueta Jefferson Clemente, Ing.

Tutor: Morales Padilla María Monserrath, Ing. Mg.

Cotutora: Villacres Poveda Clara Elena Ph.D.

RESUMEN

En un estudio reciente, se examinaron las inflorescencias de jamaica junto con diferentes tipos y concentraciones de edulcorantes para evaluar su interacción en 12 tratamientos experimentales. Estos tratamientos fueron diseñados para analizar cómo la flor de jamaica, los edulcorantes y el consorcio Scoby interactúan entre sí. Las concentraciones se determinaron a través de pruebas preliminares, revelando que el Tratamiento 11 fue el más efectivo entre los 12 evaluados. Se realizó un estudio donde se caracterizó inflorescencias de jamaica en concentraciones de 0,625 g, 1,25 g y 2,5 g /1000 ml de agua como base de estudio. Se observó que, a mayor concentración de inflorescencias, los contenidos antioxidantes eran mayores. Se analizó la influencia de fermentación con el consorcio Scoby (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast), evaluando características como propiedades físico-químicas, bioactivas (compuestos antioxidantes), microbiológicas, análisis proximal, colorimetría y su evaluación sensorial. La fermentación duró 60 horas y utilizando métodos estandarizados se evaluó el pH que durante la fermentación fluctuó entre 2.7-3.8; acidez titulable (0.0035-0.2187) % de ácido acético, contenido de sólidos solubles entre 5- 8 °Brix y capacidad antioxidante de (69.363-175.00) µg de Eq Trolox/100 ml. Finalizado la fermentación, se liofilizó con maltodextrina. El mejor tratamiento se determinó en base al contenido de polifenoles, flavonoides y capacidad antioxidante que fue T11(0.625g de inflorescencias de jamaica con 8% de panela) de acuerdo a los siguientes resultados el recuento de BAL: 4.2x10³UFC/g; contenido de polifenoles de 1.13 EAG/100 ml; flavonoides 7.29 mg de quercetina/100 ml, una capacidad antioxidante de 93.63 µg Trolox/100 ml un análisis proximal que contiene: 0.219% de proteína, 0.8% de ceniza, 6.06% de humedad y contenido de hierro de 9.38 ppm por ello se puede concluir que es un producto viable y benéfico para el consumidor.

Palabras clave:

compuestos bioactivos, caracterización, fermentación, flores de jamaica, liofilización

TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI

**DIRECCIÓN DE POSGRADO
MAESTRIA EN AGROINDUSTRIA CON MENCIÓN EN TECNOLOGÍA DE
ALIMENTOS**

Theme: “Fermented and freeze-dried drink from hibiscus flowers (*Hibiscus Sabdariffa L.*)”

Author: Rogel Barrezueta Jefferson Clemente, Ing.

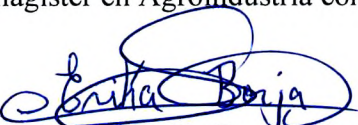
Tutor: Morales Padilla María Monserrath, Ing. Mg.

ABSTRACT

In a recent study, hibiscus inflorescences were examined along with different types and concentrations of sweeteners to evaluate their interaction in 12 experimental treatments. These treatments were designed to analyze how hibiscus flower, sweeteners, and the Scoby consortium interact with each other. The concentrations were determined through preliminary tests, revealing that Treatment 11 was the most effective among the 12 evaluated. A study was carried out where hibiscus inflorescences were characterized at concentrations of 0.625 g, 1.25 g and 2.5 g/1000 ml of water as a study basis. It was observed that, at a higher concentration of inflorescences, the antioxidant contents were higher. The influence of fermentation was analyzed with the Scoby consortium (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast), evaluating characteristics such as physical-chemical, bioactive (antioxidant compounds), microbiological properties, proximal analysis, colorimetry and its sensory evaluation. The fermentation lasted 60 hours and using standardized methods, the pH was evaluated, which fluctuated between 2.7-3.8 during fermentation; titratable acidity (0.0035-0.2187) % acetic acid, soluble solids content between 5- 8 °Brix and antioxidant capacity of (69.363-175.00) µg of Eq Trolox/100 ml. Once the fermentation was finished, it was lyophilized with maltodextrin. The best treatment was determined based on the content of polyphenols, flavonoids and antioxidant capacity, which was T11 (0.625g of hibiscus inflorescences with 8% panela) according to the following results: the BAL count: 4.2×10^3 CFU/g; polyphenol content of 1.13 EAG/100 ml; flavonoids 7.29 mg of quercetin/100 ml, an antioxidant capacity of 93.63 µg Trolox/100 ml a proximal analysis containing: 0.219% protein, 0.8% ash, 6.06% moisture and iron content of 9.38 ppm therefore it can be conclude that it is a viable and beneficial product for the consumer.

Keywords: bioactive compounds, characterization, fermentation, hibiscus flowers, freeze-drying

Erika Cecilia Borja Salazar con cédula de identidad número: 0502161094 Licenciada en: Ciencias De La Educación Especialización Inglés con número de registro de la SENESCYT: 1020-07-747814; CERTIFICO haber revisado y aprobado la traducción al idioma inglés del resumen del trabajo de investigación con el título: “Bebida fermentada y liofilizada de flores de jamaica (*Hibiscus Sabdariffa L.*)” de: Rogel Barrezueta Jefferson Clemente, aspirante a magister en Agroindustria con mención en Tecnología de Alimentos.


Mg. Erika Cecilia Borja Salazar
C.I. 0502161094

Latacunga, febrero 20, 2024

Contenido

RESUMEN.....	9
ABSTRACT.....	10
1. INFORMACIÓN GENERAL.....	1
2. INTRODUCCIÓN	2
3. VALIDACION DE HIPÓTESIS	4
3.1. Hipótesis alternativa	4
3.2. Hipótesis nula	4
4. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	4
4.1. Objetivo general.....	4
4.2. Objetivos específicos	4
4.3. Flor de jamaica (<i>Hibiscus Sabdariffa L</i>).....	5
4.4. Principios bioactivos de la flor de jamaica	5
4.5. Fenoles	6
4.6. Los antioxidantes	8
4.7. Capacidad antioxidante.....	8
4.8. Polifenoles	8
4.9. Kombucha.....	9
4.10. Liofilización.....	12
5. MATERIALES Y MÉTODOS	13
5.1. Materiales.....	13
5.2. Materia prima.....	14
5.3. Obtención de las inflorescencias de jamaica en un medio acuoso	14
5.4. Preparación del consorcio Scoby	14
5.5. Selección del consorcio Scoby	14
5.6. Preparación del biorreactor para la fermentación	15
5.7. Procedimiento para la elaboración de la bebida fermentada y liofilizada de jamaica	15
5.8. Análisis físico-químicos	15
5.9. Análisis de compuestos antioxidantes	16
5.10. Análisis del recuento microbiológico	16
5.11. Análisis proximal.....	16

5.12.	Índice de color de los liofilizados	16
5.13.	Análisis sensorial	16
5.14.	Diagrama de flujo para la elaboración de la bebida fermentada y liofilizada de flores de jamaica	17
5.15.	Análisis estadístico	18
6.	RESULTADOS Y DISCUSION	20
6.1.	Caracterización de las inflorescencias de jamaica.....	20
6.2.	Evaluación sensorial	34
7.	CONCLUSIONES	35
8.	RECOMENDACIONES.....	36
9.	BIBLIOGRAFÍA	36
10.	ANEXOS	46
10.1.	Análisis de varianza de pH	46
10.2.	Análisis de varianza de acidez	46
10.3.	Análisis de varianza de brix.....	46
10.4.	Análisis de varianza de polifenoles	47
10.5.	Análisis de varianza de flavonoides.....	47
10.6.	Análisis de varianza de Capacidad antioxidante.....	48
10.7.	Análisis de varianza para las variables pH, acidez y brix, polifenoles, flavonoides y cap. antioxidante.....	48
10.8.	Fotografías	49
10.9.	Grafica 1 Interacción pH.....	51
10.10.	Grafica 2 Interacción de acidez	51
10.11.	Grafica 3 Interacción de Brix.....	52
10.12.	Grafica 4 Interacción de flavonoides	52
10.13.	Grafica 5 Interacción de polifenoles	53
10.14.	Grafica 6 Interacción de la capacidad antioxidante	53
10.15.	Encuesta sensorial de la bebida fermentada de jamaica	54
10.16.	Formato Revista.....	55

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición proximal, contenido de compuestos bioactivos y actividad antioxidante de la jamaica.....	7
Tabla 2. Bacterias y levaduras asociadas con la fermentación de la Kombucha.	11
Tabla 3. Variable independiente evaluadas en el diseño experimental.....	18
Tabla 4. Variable dependiente evaluadas en el diseño experimental.....	19
Tabla 5. Tratamientos	20
Tabla 6. Caracterización de las concentraciones de inflorescencias de jamaica.....	21
Tabla 7. Características físico-química a las 60 horas de fermentación.....	23
Tabla 8. Características de compuestos antioxidantes iniciales y finales de la fermentación.....	24
Tabla 9. Análisis microbiológico de Bacterias Acido Lácticas (BAL).....	31
Tabla 10. Análisis proximal.....	32
Tabla 11. Determinación de macro y microelementos.....	33
Tabla 12. Análisis de varianza de color.....	34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Planta de flor de jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa</i>)	5
Figura 2. Estructuras químicas de los componentes que posee la flor de jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa</i>)	6
Figura 3. Interacción del pH durante las 60 horas de fermentación.....	26
Figura 4. Interacción de la acidez titulable durante las 60 horas de fermentación.....	27
Figura 5. Interacción de los sólidos solubles totales en las 60 horas de fermentación.....	28
Figura 6. Comportamiento inicial y final de los polifenoles.....	29
Figura 7. Comportamiento inicial y final de los flavonoides.....	30
Figura 8. Comportamiento inicial y final de la Capacidad antioxidante.....	30
Figura 9. Evaluación sensorial de las bebidas fermentadas de jamaica.....	35

1. INFORMACIÓN GENERAL

Título del Proyecto:

“Bebida fermentada y liofilizada de inflorescencias de jamaica (*Hibiscus Sabdariffa* L.)”

Línea de investigación:

Procesos tecnológicos, bioquímica, biomateriales, desarrollo y seguridad alimentaria

Sub-línea:

Biotechnología agroindustrial y fermentativa

Proyecto de investigación asociado:

Manejo de cosecha y postcosecha de productos agrícolas y estudios de los procesos de transformación de residuos agropecuarios

Grupo de investigación:

Estudiante:

- Rogel Barrezueta Jefferson Clemente, Ing.

Tutor de investigación:

- Morales Padilla María Monserrath, Ing. Mg.

2. INTRODUCCIÓN

Hoy en día, la agricultura se ha convertido en un sector muy dinámico y atractivo en varios países del mundo con grandes perspectivas de desarrollo, aunque el potencial de crecimiento es incierto, ya que muchos países se enfocan en participar con la conquista en el mercado internacional.

La flor de jamaica o cardo (*Hibiscus sabdariffa* L.) es una planta de la familia Malvaceae, género *Hibiscus* y especie *Sabdariffa* L, que produce flores blancas, amarillentas o rosadas debajo de las hojas y en los tallos. Tiene una copa llamada cáliz en el centro, y dependiendo de la variedad y estado de madurez, el cáliz puede ser marrón, rojo o morado (Montaño Arango, Oscar. et al., 2023).

Las flores de jamaica en su composición se puede encontrar sustancias químicas entre las cuales se destacan los compuestos fitoquímicos (antocianinas, carotenos, xenonina) y sus nutrientes (vitaminas y minerales, glúcidos, proteínas, grasas, cenizas entre otras), con lo que respecta a compuestos bioactivos se puede apreciar una variedad encontrada en esta flor (*H Sabdariffa Sabdariffa* L) entre las más destacadas para el presente trabajo de investigación encontramos a los fenoles, alcaloides, los diferentes tipos de ácidos, y una variedad de vitaminas ya sean esta la vitamina D,B1,B2 (Montaño Arango, Oscar. et al., 2023).

Uno de los retos de la industria agroalimentaria es encontrar nuevas fuentes de materias primas para poder involucrarse en la producción de bebidas fermentadas; por ello, se ha desarrollado una amplia gama de productos fermentados que pretenden satisfacer los nuevos requerimientos del consumidor. El constante crecimiento del mercado obliga a los productores a innovar, lo que hace necesaria la investigación de otras alternativas de bebidas no tradicionales, como las elaboradas a base de la flor de jamaica (Viteri Borja, J.G. et al., 2022).

Una alternativa saludable de una bebida refrescante es la kombucha que se elabora sumergiendo hojas de té negro en agua caliente junto con un poco de azúcar, se añade un cultivo madre, que es una simbiosis de bacterias y levaduras, a la mezcla. Después de esto, las bacterias y levaduras generan celulosa y forman una parte fibrosa; el resultado es una bebida refrescante con diversos metabolitos, como etanol, ácidos orgánicos, vitaminas, probióticos, azúcares, polifenoles,

antioxidantes y aminoácidos (Freitas et al., 2022). La presencia de compuestos bioactivos en la kombucha ha llevado a que los estudios sobre esta bebida destaquen por las propiedades funcionales tanto en la industria alimentaria como en el campo de la salud. La kombucha aporta beneficios a la salud al actuar como antioxidante gracias a los polifenoles que contiene. (Chakravorty et al., 2016).

El trabajo de investigación tiene como finalidad realizar una bebida fermentada y liofilizada utilizando inflorescencias secas de jamaica con el fin de evaluar el proceso fermentativo a su vez realizar un análisis físico-químico, contenido de compuestos bioactivos, microbiológico, minerales, colorimetría y un análisis sensorial al producto final.

La flor de jamaica se distingue por su notable contenido de vitaminas A y C, así como una riqueza en minerales, ácido cítrico y málico. Su perfil antioxidante la convierte en un alimento beneficioso para abordar problemas digestivos, favorecer la pérdida de peso y contribuir al control del colesterol y la regulación de los triglicéridos. A pesar de su histórico uso medicinal, se ha explorado la viabilidad de crear un producto liofilizado funcional, ofreciendo nuevas perspectivas para aprovechar sus propiedades de manera práctica y duradera.

Dicha investigación está dirigida a los productores de flores de jamaica, brindando una pauta a instituciones públicas y privadas interesadas en la generación de investigación y transferencia de tecnología, como es el proyecto de elaboración de una bebida fermentada y liofilizada de inflorescencias de jamaica. La flor de jamaica, a pesar de ser una flor de la que se pueden obtener muchos derivados medicinales y gastronómicos, no ha sido debidamente aprovechada, por lo que, a la hora de elaborar una bebida fermentada y liofilizada, se espera que el producto final sea atractivo para el consumidor dando realce a la producción de flor de jamaica y ganar más renombre en las regiones ecuatorianas. La abundancia de la flor de jamaica en la región amazónica del Ecuador no ha sido completamente aprovechada, por esta razón se busca introducir las flores de jamaica en el ámbito industrial para la creación de diversos productos, tales como alimentos, cosméticos y medicamentos, entre otros. La adaptabilidad de esta planta al clima de cultivo y

la creciente demanda global de innovación han generado un impacto significativo, abriendo oportunidades para satisfacer diversas necesidades.

En la actualidad poco es el consumo de productos fermentados procedente de flores de jamaica, dando así una baja producción y cosecha de esta materia prima en el territorio ecuatoriano, es por ello que el trabajo de investigación pretende desarrollar una bebida fermentada y liofilizada de flores de jamaica con propiedades funcionales.

3. VALIDACION DE HIPÓTESIS

3.1. Hipótesis alternativa

H_a: Las concentraciones de inflorescencias de jamaica y el tipo y concentración de endulzante afecta a las propiedades físico-químicas, bioactivas, microbiológicas y sensoriales de una bebida a base de inflorescencias de jamaica.

“Al analizar los datos obtenidos, se podría determinar que si existen diferencias significativas en estas propiedades entre las muestras preparadas con diferentes concentraciones de inflorescencias de jamaica y tipos de endulzantes. Esto ayudaría a validar la hipótesis alternativa de que estas variables tienen un impacto en las propiedades físico-químicas, bioactivas, microbiológicas y sensoriales de la bebida.”

3.2. Hipótesis nula

H_o: Las concentraciones de inflorescencias de jamaica y el tipo y concentración de endulzante no afecta a las propiedades físico-químicas, bioactivas, microbiológicas y sensoriales de una bebida a base de inflorescencias de jamaica.

4. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

4.1. Objetivo general

- Obtener una bebida fermentada y liofilizada a base de inflorescencias de jamaica.

4.2. Objetivos específicos

- Analizar la influencia del consorcio Scoby en la elaboración de una bebida fermentada con inflorescencia de jamaica.

- Determinar las características físicas-químicas y compuestos antioxidantes durante el periodo de fermentación.
- Evaluar la influencia de la liofilización sobre las propiedades microbiológicas y sensoriales en los tres mejores tratamientos.

4.3. Flor de jamaica (*Hibiscus Sabdariffa L*)

La flor de jamaica (*Hibiscus Sabdariffa L.*) es una planta originaria de la región de la India y se extendió a Malasia, donde es apreciada por sus cáliz. Sus flores son carnosas, de color rojo brillante y tienen un sabor refrescante (Rosado Coraizaca, K., 2020).

La especie que produce el cáliz es la más importante. Los ácidos y pigmentos del vaso de precipitados se utilizan para preparar té, preparar vino y colorear salchichas. También se pueden hacer jaleas, jarabes, dulces, mermeladas, conservas, postres, tortas, salsas y con fines culinarios (Hidalgo, Villatoro et al., 2009).

Figura 1 Planta de flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*)



Fuente: (Nicholls Posada & Ramírez García, 2014)

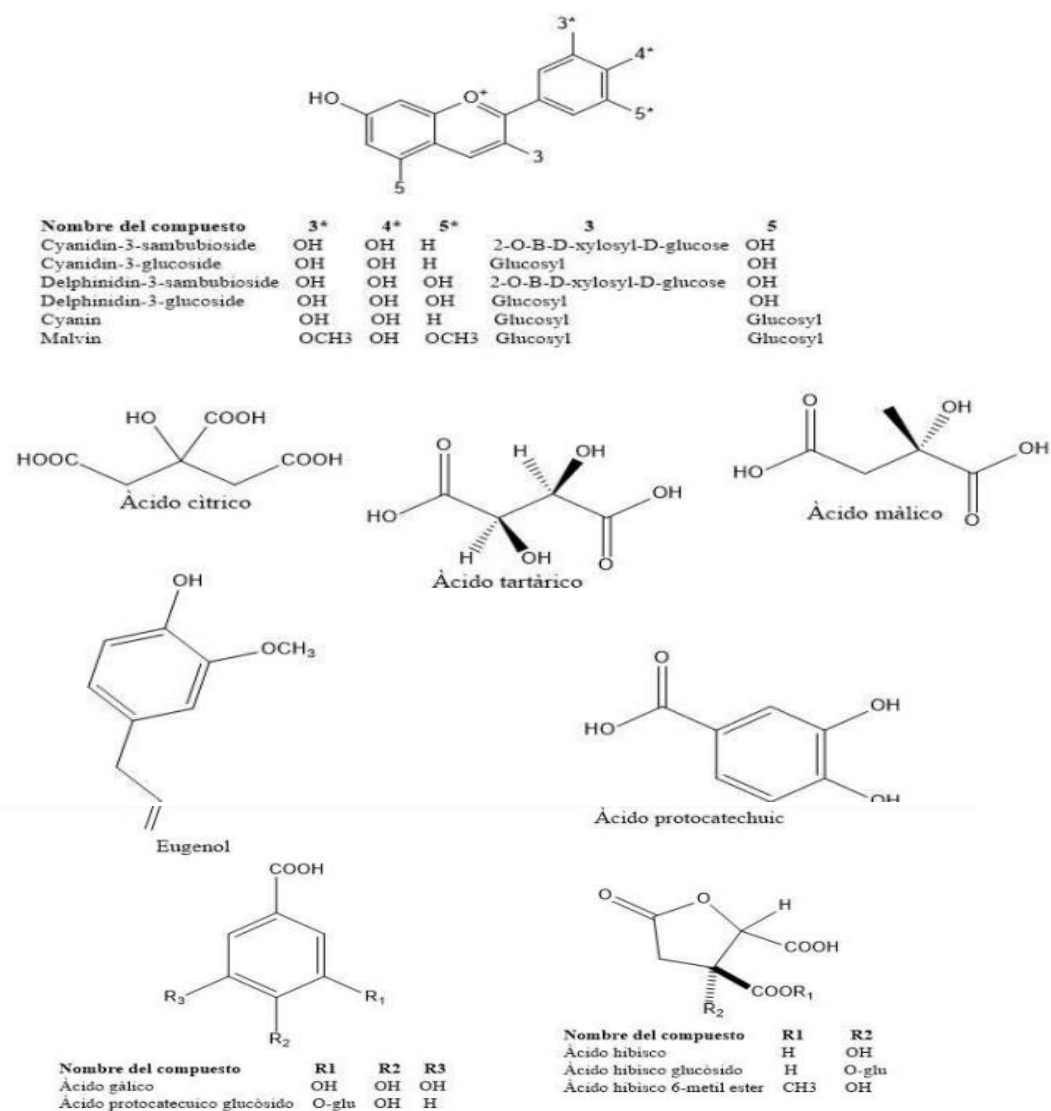
4.4. Principios bioactivos de la flor de jamaica

Desde un punto de vista farmacológico, los principales componentes de *H. sabdariffa* son: ácidos orgánicos (ácido cítrico, ácido ascórbico, ácido maleico, ácido oxálico, ácido tartárico), flavonoides, principalmente antocianinas (delfinidin-3-glucósido, sambubiósido, Antocianina-3-sambubiósido), así como fitoesteroles, polifenoles y otros antioxidantes solubles en agua (Veloz Pinto, 2022)

Además, se ha detectado la presencia de alcaloides, ácido ascórbico, betacaroteno y vitaminas B1 y B2 (Hernández Sosa, 2019). Los ácidos orgánicos y los compuestos fenólicos tienen actividad de eliminación de radicales libres, y los efectos beneficiosos para la salud se pueden atribuir en gran medida a estas

moléculas bioactivas (Riaz & Chopra, 2018). En la Figura 2 se muestran las estructuras químicas de los compuestos que posee esta planta.

Figura 2. Estructuras químicas de los componentes que posee la flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*)



Fuente:(Navidad, Murrieta et al., 2020).

4.5. Fenoles

Un compuesto fenólico es un compuesto orgánico que tiene al menos un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilo (OH), la estructura básica se llama fenol. Estructuralmente, son un grupo diverso, que va desde moléculas fenólicas simples hasta compuestos altamente poliméricos (taninos) (Cabrera-Carrión et al., 2017). Las vitaminas, los compuestos fenólicos se consideran importantes antioxidantes dietéticos, por ejemplo, se encuentran en frutas, verduras, verduras,

raíces y granos. Miles de compuestos fenólicos se encuentran en alimentos y plantas medicinales. Los compuestos fenólicos determinan el color y las propiedades organolépticas de plantas y alimentos, como el poder astringente de frutas y verduras (Cabrera-Carrión et al., 2017).

4.5.1. *Composición química de la flor de jamaica*

Composición química, contenido de sustancias bioactivas y actividad antioxidante de 20 cultivares de flor de jamaica cultivados en México. La composición del cáliz de Jamaica varía con el color y las diferencias genéticas. El cáliz contiene: antocianinas 1,5%, ácidos orgánicos 15-30%, polisacáridos mucílagos 50%, flavonoides, saponinas, fitoesteroles, pectina y fibra. Se ha demostrado que los ácidos orgánicos y las antocianinas tienen actividad antibacteriana y antioxidante tal cual como se detalla en la Tabla 1. Todos estos componentes tienen buena biodisponibilidad y potencial terapéutico. Otros componentes funcionales de la copa incluyen minerales como calcio, hierro, magnesio y zinc, vitaminas B1, B2, C, D y E, teniendo en cuenta todos los aminoácidos esenciales excepto el triptófano (Izquierdo, Vega et al., 2020).

Tabla 1. *Composición proximal, contenido de compuestos bioactivos y actividad antioxidante de la jamaica*

Datos expresados en g por cada 100 en base seca	
Humedad	11.29
Ceniza	8.11
Proteína	10.99
Lípidos	0.82
Carbohidratos totales	34.81
Fibra dietética soluble	8.76
Polisacáridos no amiláceos de la fibra dietética insoluble	23.44
Lignina Klason de la fibra dietética insoluble	3.64
Fibra dietética total	35.85
Datos expresados en mg equivalentes de ácido gálico g-1 en base seca	
Polifenoles extraíbles	38.29
Polifenoles hidrolizables	11.6
Taninos condensados	3.3
Datos expresados en mM equivalentes trolox g-1 en base seca	
Actividad antiradical	438.08
Actividad quelante	217.98

Fuente: (Duarte, Valenzuela et al., 2016).

Elaborado por: Autor (Rogel, 2023)

4.6. Los antioxidantes

Un antioxidante es una sustancia presente en los alimentos que consumimos diariamente y que tiene la capacidad de proteger contra los efectos dañinos de especies reactivas en las funciones fisiológicas normales del cuerpo humano. Además de estudiar las interacciones químico-biológicas, es importante examinar las propiedades antioxidantes por su papel en el deterioro oxidativo que afecta a los alimentos. En la industria alimentaria, estos antioxidantes se agregan a grasas y otros productos para retrasar los procesos de oxidación, evitando así el inicio de la rancidez oxidativa en las grasas (Valencia, Avilés et al., 2017).

4.7. Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante de los alimentos se basa en la idea de que el estrés oxidativo es un proceso biológico que se considera un factor etiológico, y esto ocurre cuando la velocidad de generación de radicales libres supera la actividad de los sistemas de protección (Suárez-Rebaza et al., 2023). El nivel de compuestos antioxidantes en frutas y hortalizas, y en consecuencia su capacidad antioxidante, puede ser influenciado por factores fisiológicos, como el proceso de maduración, así como por factores tecnológicos, como las condiciones de conservación y procesamiento (Valencia, Avilés et al., 2017).

4.8. Polifenoles

Los polifenoles (PF) o compuestos fenólicos (CF) son moléculas naturales que provienen del metabolismo secundario de las plantas y se derivan de las vías del shiquimato y los fenilpropanoides. Estas sustancias están ampliamente distribuidas en el reino vegetal, y, de hecho, las plantas sintetizan miles de compuestos fenólicos distintos (Valencia, Avilés et al., 2017). Los compuestos fenólicos se han clasificados en dos grandes grupos, los flavonoides (F) y no flavonoides. Dentro del grupo de los compuestos fenólicos (F) se encuentran diversas subclases, como los flavonoles (FN), flavonas (FAS), flavan-3-oles, isoflavonas (IF), flavanonas (FNA), dihidroflavonoles (DHF), antocianidinas y chalconas. Por otro lado, en el grupo de compuestos no fenólicos (no F) se incluyen los ácidos hidroxibenzoicos, ácidos hidroxicinámicos, polifenoles volátiles,

estilbenos y otros compuestos diversos como lignanos y cumarinas (Valencia, Avilés et al., 2017).

4.9. Kombucha

Kombucha es una bebida fermentada que se originó en Asia. Sin embargo, ha ganado popularidad en Occidente debido a sus propiedades medicinales como antibacteriano, antioxidante, anticancerígeno, antidiabético y tratamiento de úlceras pépticas y colesterol alto. También ha mostrado efectos sobre la respuesta inmune y la desintoxicación del hígado (Coelho et al., 2020). Los efectos beneficiosos de la kombucha están relacionados con la presencia de microorganismos probióticos (bacterias acéticas y lácticas), antibióticos, aminoácidos, polifenoles, azúcares, ácidos orgánicos, etanol, vitaminas hidrosolubles y diversos microelementos producidos en el proceso de fermentación (Coelho et al., 2020).

Es relevante destacar que en ciertas variedades de kombucha también pueden encontrarse bacterias del ácido láctico (BAL), tales como *Lactobacillus* y *Lactococcus*. No obstante, aunque las BAL desempeñan un papel importante en las propiedades probióticas de la kombucha, este conjunto de bacterias no se encuentra necesariamente presente en todas las cepas microbianas de esta bebida (Vargas et al., 2021). En los últimos tiempos, el té tradicional de kombucha ha despertado un creciente interés tanto en investigadores como en consumidores debido a sus propiedades probióticas.

El té de kombucha se obtiene mediante la fermentación de un cultivo simbiótico compuesto por bacterias del ácido acético (AAB) como *Komagataeibacter*, *Gluconobacter* y *Acetobacter*, bacterias del ácido láctico (LAB) como *Lactobacillus* y *Lactococcus*, y levaduras como *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces ludwigii*, *Kloeckera apiculata*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces bailii*, *Torulaspora delbrueckii* y *Brettanomyces bruxellensis*. Este proceso de fermentación se lleva a cabo en un medio dulce, generalmente utilizando té negro (Villaroel, Soto et al., 2018).

4.9.1. Fermentación de la Kombucha

La fermentación de la kombucha es el resultado de la interacción de estas tres componentes: la fermentación alcohólica, la fermentación láctica y la

fermentación acética, debido a la coexistencia de varias levaduras y bacterias en el medio. Para que el hongo Kombucha logre su reproducción, es imprescindible que el entorno cuente con una cantidad adecuada de azúcar, y se aconseja emplear hojas de té negro para acelerar dicho proceso (Ricaurte, Heredia, 2020), según el autor (Apaza, Mamani & Choque, Mamani, 2018). Destaca que en el proceso de fermentación es crucial el contenido de azúcares, ya que las levaduras se nutren de glucosa y fructosa. Esto implica que el nivel de °Brix, que oscila entre 7,3 y 7,5, es fundamental para el desarrollo del proceso.

Para poder iniciar una buena fermentación el autor (Vargas, Lopez & Vargas, Mora, 2011) menciona que lo óptimo en concentraciones de sólidos solubles como inicio de la fermentación es de 12 °Brix lo cual es óptimo utilizar ese valor inicial en los tratamientos. Es por ello que la cantidad de endulzante según el autor (Villaroel, Soto et al., 2018) es de 50gr por cada litro de agua.

Sin embargo el autor (Dutta & Paul, 2019) menciona lo siguiente, aunque diversas investigaciones sugieren el uso de 70 gramos de azúcar por litro junto con 5 gramos de hojas de té, se considera que la cantidad óptima para la producción de etanol y ácidos orgánicos es de 50 gramos de azúcar por litro. Sin embargo, debemos tener en cuenta que el pH cabe mencionar que el autor (Martínez Leal et al., 2018) debe llegar a un nivel cercano a 4.2 previo a este se debe detener o parar la fermentación especialmente por la sobreproducción del ácido acético que podría acidificar demasiado la bebida.

4.9.2. *Scoby*

El SCOBY, cuyas siglas en inglés significan "biopelícula simbiótica de bacterias y levaduras", es ampliamente reconocido por su papel en la producción de bebidas fermentadas, como el té kombucha. Esta simbiosis se nutre de los azúcares presentes en el té endulzado, a través de tres tipos de fermentación (láctica, alcohólica y acética), lo que resulta en la producción de ácidos orgánicos, aminoácidos, sustancias antibióticas, vitaminas y diversos compuestos bioactivos beneficiosos para la salud humana, muchos de los cuales aún no han sido completamente identificados (Guzman Ortiz, 2021).

Dentro de la fermentación se ven asociadas diferentes bacterias y levaduras asociadas con la fermentación de la Kombucha, la cual se detalla a continuación:

Tabla 2. *Bacterias y levaduras asociadas con la fermentación de la Kombucha.*

Tipo de Microorganismo	Definición
Bacterias	
<i>Acetobacter</i>	Existen bacterias aeróbicas presentes en la kombucha, como la acetobacter xylinoides y la acetobacter ketogenum, las cuales son capaces de producir ácido acético y ácido glucónico.
<i>Lactobacillus</i>	Existe otra bacteria aeróbica que ocasionalmente puede encontrarse en la kombucha, la cual tiene la capacidad de producir ácido láctico.
<i>Gluconacetobacter kombuchae</i>	Dentro de la kombucha se encuentra una bacteria anaeróbica única que se alimenta del nitrógeno proveniente del té y genera ácido acético y ácido glucónico como productos.
Levaduras	
<i>Saccharomyces</i>	En el kombucha, se encuentran diversas cepas de levaduras que son las más frecuentes y que tienen la capacidad de producir alcohol. Estas levaduras presentan variantes tanto aeróbicas como anaeróbicas.
<i>Brettanomyces</i>	Existe otra variante de levadura que se encuentra comúnmente en la kombucha y tiene la capacidad de producir alcohol o ácido acético. Esta levadura puede ser tanto aeróbica como anaeróbica.
<i>Zygosaccharomyces kombuchaensis</i>	Esta levadura es exclusiva de la kombucha y tiene la capacidad de producir alcohol y generar carbonatación.

Fuente:(Ricaurte, Heredia, 2020)

A medida que se prolonga el proceso de fermentación, los niveles de azúcar disminuyen aún más.

4.9.3. Factores que afectan el proceso de fermentación.

4.9.3.1.Sustrato

Comúnmente, la bebida de Kombucha se produce mediante la fermentación de té verdes o negros que han sido endulzados.

4.9.3.2.Efecto del tiempo

La fermentación del té de Kombucha suele tener lugar en un rango de tiempo que va desde 7 hasta 60 días, y durante este proceso, las actividades biológicas pueden aumentar. No obstante, los resultados más favorables se han logrado en un período promedio de 15 días. Cuando se fermenta durante 6 a 10 días, se obtiene una bebida refrescante y afrutada, mientras que un tiempo de fermentación más prolongado puede dar lugar a un sabor más ácido, similar al vinagre (Nyhan et al., 2022)

4.9.3.3.Efecto de la temperatura

Normalmente, los rangos de temperatura para la fermentación de Kombucha se sitúan entre 22 °C y 30 °C (Villaroel, Soto et al., 2018).

4.9.3.4.El pH

No obstante, es importante destacar que el valor de pH más bajo tolerable no debe descender por debajo de 3, que es el pH del tracto digestivo(Velicanski et al., 2015).

4.10. Liofilización

La técnica de liofilización ha demostrado su utilidad en diversas aplicaciones a lo largo del tiempo, especialmente cuando se trata de productos sensibles al calor o inestables en soluciones acuosas durante períodos prolongados. Este método se ha consolidado como un enfoque efectivo para abordar desafíos relacionados con la estabilidad física y química de dichos productos.(Rodríguez et al., 2023).

Este método involucra la inhibición del metabolismo celular a través de tres etapas consecutivas. En la primera fase, se lleva a cabo la congelación de la muestra. En la segunda fase, el hielo formado se elimina en forma de vapor en un proceso conocido como sublimación, el cual ocurre solamente cuando la temperatura y la presión parcial del vapor de agua son inferiores al punto triple del agua. Por último, se realiza una etapa de secado para eliminar el exceso de agua que no se evaporó durante el paso anterior.(Assegehegn et al., 2019).

4.10.1. Aplicaciones de la liofilización

La liofilización encuentra su principal aplicación en el campo farmacéutico, donde se utiliza para conservar comprimidos, tejidos, plasma, sueros y otros productos biológicos. También se emplea en la industria química para preparar catalizadores, así como para el secado de materiales orgánicos como madera y flores, y en la preservación de animales mediante la taxidermia. Además, se utiliza para conservar documentos y libros antiguos. Por otro lado, la liofilización ha ganado relevancia en proyectos multinacionales destinados a preparar alimentos para astronautas, montañistas y comandos militares. Sin embargo, en la actualidad, este mercado se está ampliando hacia el consumidor común, gracias a las empresas alimentarias que han descubierto los beneficios de los alimentos liofilizados, destacando su intenso sabor, su consistencia crujiente y su atractivo carácter innovador (Fan et al., 2019).

5. MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación realizada tuvo un enfoque cualitativo y cuantitativo ya que se midió parámetros físicos-químicos, compuestos antioxidantes, microbiológicos, colorimétrico y sensoriales, el tipo de investigación fue de carácter experimental ya que se estudió la base científica y métodos de transformación para la obtención de la bebida partiendo de un proceso experimental para definir las variables de estudio y factores experimentales para poder así obtener respuestas experimentales de importancia para el estudio. Los métodos que se emplearon están sujetos a cada procedimiento experimental que se requería durante el desarrollo de la bebida fermentada y liofilizada. El proyecto se lo realizó en conjunto entre la Universidad Técnica de Cotopaxi y el Instituto Nacional de Investigación Agropecuarias INIAP en el Departamento de Nutrición y Calidad.

5.1. Materiales

Se utilizaron equipos de laboratorios como: balanza analítica OHAUS Adventurer Pro AV213, micropipeta automática 100-1000µl Microlit, brixometro digital Milwaukee MA884, pH metro WTW Inolab, cromatógrafo Thermo Scientific Evolution 201 UV-Visible Spectrophotometer, liofilizador

LABCONCO Freeze Dry Sistem, incubadora MEMMERT Inb 400 y reactivos como: Folin-Ciocalteu, carbonato sódico, fenoltaleína, NaOH, ácido gálico etc.

5.2. Materia prima

Se utilizaron inflorescencias de jamaica en estado fresco obtenidas en el mercado del Cantón Machachi las cuales presentaron características homogéneas en cuanto a estado de madurez, color, tamaño y forma; se revisó y verificó que cumplan con las características de calidad tales como una humedad máxima entre el 80 y 90%, los calices deben estar enteros, sin hongos y con un color rojo oscuro; la flores de jamaica se lavaron con agua destilada a temperatura ambiente.

5.3. Obtención de las inflorescencias de jamaica en un medio acuoso

Las inflorescencias de jamaica fueron secadas en el deshidratador Dakota DKD a una temperatura de 60 °C durante 6 horas hasta alcanzar una humedad menor al 7% según la NTE INEN 2392. Se prepararon diluciones con concentraciones en cantidades específicas de 2.5g, 1.25g y 0.625g de inflorescencias por cada 1000ml de agua destilada a una temperatura de 90°C y se mantuvo esta condición durante 3 minutos; se dejó reposar durante 35 minutos y se procedió a filtrar el líquido a través de una malla de 100µm, obteniendo así extractos de inflorescencias de jamaica para finalmente caracterizar midiendo pH, densidad, acidez titulable, y compuestos bioactivos.

5.4. Preparación del consorcio Scoby

En 1000mL de agua purificada a 90°C, se agregó 3g de té negro y 60g de azúcar (sacarosa). Se dejó enfriar hasta alcanzar 40°C y se filtró. Posterior, se agregó 200mL de kombucha, el líquido se colocó en un recipiente de cristal transparente y se fermentó durante 21 días a una temperatura promedio de 30 °C (David Barroeta Bonilla et al., 2019).

5.5. Selección del consorcio Scoby

Se seleccionaron los consorcios más jóvenes, aquellos que tienen aproximadamente 21 días desde que se formó la capa celulósica acondicionados previamente.

5.6. Preparación del biorreactor para la fermentación

Se utilizó una incubadora ajustada a una temperatura de 25 °C. Se tomaron las inflorescencias de jamaica y se colocaron en frascos de vidrio. A las inflorescencias se les agregó sacarosa comercial, panela y los consorcios Scoby. Se realizaron muestreos cada 10 horas y se llevaron a cabo mediciones de parámetros físico-químicos a lo largo de todo el proceso de fermentación. Además, se evaluaron los compuestos antioxidantes al inicio y al final de la fermentación para determinar el impacto de este proceso en la concentración de compuestos antioxidantes en la bebida fermentada de jamaica. La fermentación se extendió a lo largo de 60 horas.(Alfonso-Acosta et al., 2019).

5.7. Procedimiento para la elaboración de la bebida fermentada y liofilizada de jamaica

Para el medio de cultivo se calentó 1000 ml de agua a 90 °C y se colocaron en frascos de vidrio transparentes, al cual se adicionó las inflorescencias de jamaica deshidratadas en concentraciones de 2.5, 1.25 y 0.625 g; se adicionó azúcar refinada y panela en concentraciones de 6 % (60g/l) y 8 % (80g/l). Posterior, se añadió 23 g de consorcio Scoby activando el proceso de fermentación aeróbica utilizando una incubadora ajustada a una temperatura de 25 °C por 60 horas (Alfonso-Acosta et al., 2019). Al finalizar la fermentación se filtró en un papel filtro whatman 90 mm, se agregó maltodextrina 5 g/100 ml se agitó hasta que se disuelva completamente y se congeló a -5 °C por 5 días. Las muestras congeladas se liofilizaron en el equipo LABCONCO Freeze Dry Sistem, a una temperatura -20°C y presión de -30 mmHg por 5 días, el tiempo dependió del contenido de sólidos solubles presente en las muestras. Las muestras secas fueron pesadas y pulverizadas para ser empacadas en fundas plásticas zipper y se almacenaron en refrigeración a una temperatura 4 °C.

5.8. Análisis físico-químicos

El pH se midió utilizando un potenciómetro bajo la Norma Mexicana NMX-F-317-S-1978. Para la acidez titulable esta se determinó en función del porcentaje de ácido acético según la normativa INEN 103. El contenido de sólidos solubles se midió con un refractómetro digital Milwaukee MA884 según el procedimiento establecido por la norma NMX-F-103-1982.

5.9. Análisis de compuestos antioxidantes

Los polifenoles se cuantificaron siguiendo el método descrito por Waterhouse AL (Waterhouse, 2002). Los flavonoides se cuantificaron utilizando método espectrofotométrico descrito por Quettier-Deleu (Quettier-Deleu et al., 2000). La capacidad antioxidante se evaluó mediante el método ABTS descrito por Murcia KS 24.

5.10. Análisis del recuento microbiológico

Los análisis del recuento microbiológico de BAL (Bacterias ácido lácticas) se realizaron según el método PEEMi/LA/40 Petrifilm PTM 041701.

5.11. Análisis proximal

Se consideraron parámetros que fueron evaluados mediante los métodos AOAC. La humedad se utilizó el método gravimétrico por la diferencia de peso de los compuestos (AOAC 964.22). Las cenizas se determinaron mediante el proceso de incineración seca (AOAC 945.38). La proteína cruda se realizó mediante el método Kjeldahl (AOAC, 2001.11-2002). La fibra bruta se determinó mediante una digestión ácida (AOAC 926.09).

5.12. Índice de color de los liofilizados

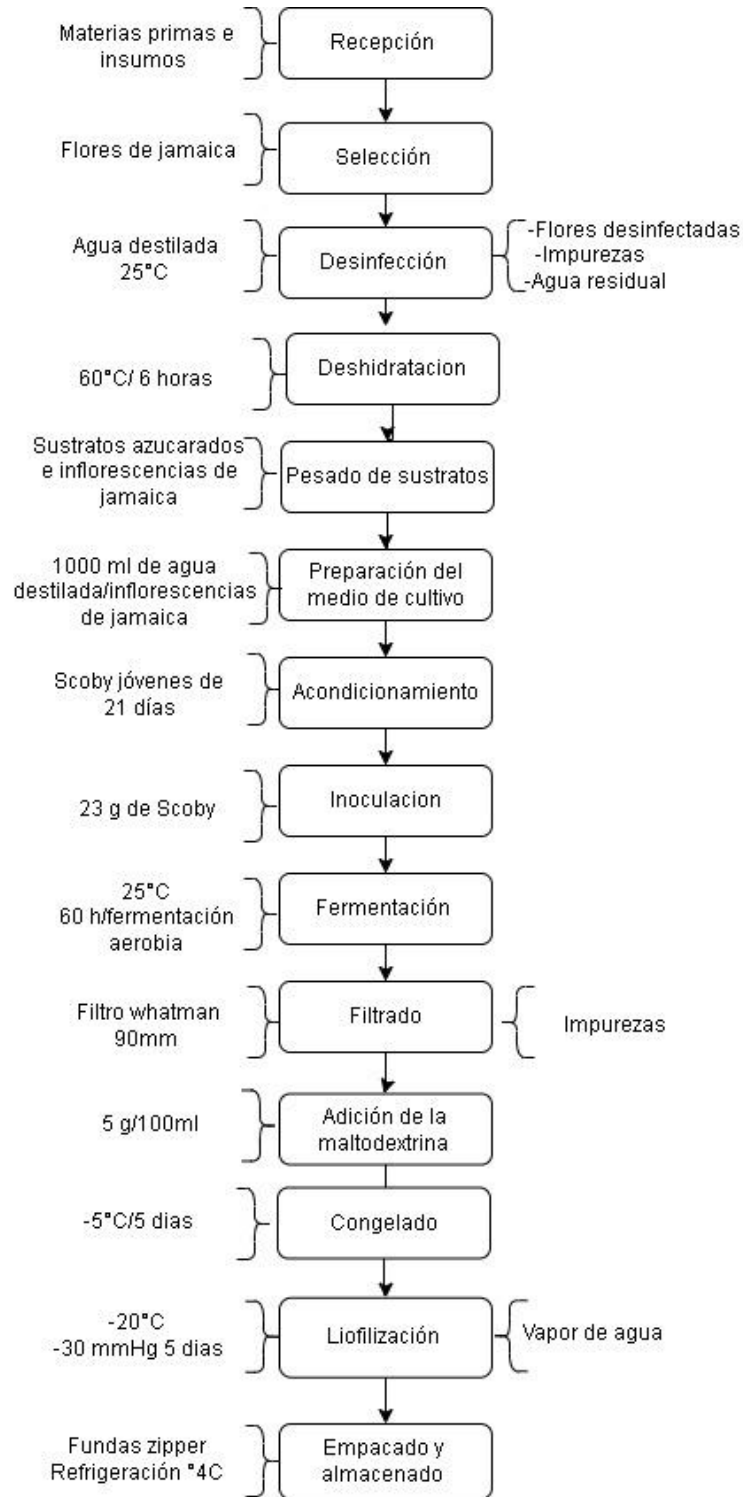
La determinación del color se lo realizó con disposición de 25 g de cada muestra liofilizada en un vidrio de reloj para determinar las coordenadas L*, a* y b* mediante un equipo PCE-CSM 2 a escala CIELAB, el valor final se obtuvo a partir del promedio de tres mediciones en una cámara aislada a la luz natural. Cada muestra se colocó en un vidrio de cristal y por debajo una hoja de papel blanco. La toma de color se realizó mediante colorimetría aplicando el método CIELab (AOAC, 985.25).

5.13. Análisis sensorial

Los liofilizados fueron sometidos a una evaluación sensorial empleando una escala hedónica no estructurada de 5 puntos. Las escalas que fueron descritas como punto 1 “no me gusta nada”, “no me gusta”, “ni me gusta ni me disgusta”, “me gusta”, y punto 5 “me gusta mucho” para evaluar atributos como el olor, color, sabor y aroma se empleó un panel de catadores semi-entrenados conformados por

hombres y mujeres con edades comprendidas entre 20 y 45 años (Julia Espinosa-Manfugás ;, s. f.).

5.14. Diagrama de flujo para la elaboración de la bebida fermentada y liofilizada de flores de jamaica



Elaborado por: Autor (Rogel, 2023)

5.15. Análisis estadístico

Se empleó el software Infostat para llevar a cabo el análisis estadístico. Se realizó un ANOVA multivariable y se aplicó la prueba de Tukey con un nivel de significancia del 95% (donde $P < 0.05$) para identificar diferencias de importancia entre las diferentes muestras. Cada uno de los análisis se llevaron a cabo mediante mediciones triplicadas y los resultados se comunicaron en forma de promedios y desviaciones estándar.

5.15.1. Diseño experimental

Para la obtención de la bebida fermentada y liofilizada de inflorescencias de jamaica se aplicó un modelo estadístico ANOVA de múltiples factores.

Tabla 3. Variable independiente evaluadas en el diseño experimental

Variable Independiente	Dimensiones	Indicadores	Técnicas e instrumentos
Concentraciones de inflorescencias de jamaica	*2.5 g *1.25 g *0.625 g	Concentración en base a los ensayos experimentales	Ensayos preliminares
Tipo de Sustratos	*g/L de sacarosa *g/L de panela	Tiempo de fermentación de la bebida probiótica liofilizada	Basado en fuentes bibliográficas
Concentración de los sustratos azucarados	*8 % *6%	Concentración en base a los ensayos experimentales	Ensayos preliminares

Tabla 4. Variable dependiente evaluadas en el diseño experimental

Variable Dependiente	Dimensiones	Indicadores	Técnicas e instrumentos
Características físico-químicas	*pH *Acidez *Solidos solubles (°Brix)	pH, Acidez, °Brix	pH (NMX-F-317-S-1978), acidez (INEN 103), solidos solubles (NMX-F-103-1982)
Compuestos antioxidantes	*polifenoles *flavonoides *capacidad antioxidante	mg AG/100 ml mg Quercetina/100 ml µg Trolox Eq /ml	ABTS
Recuento microbiológico	*Presencia de microorganismos benéficos	UFC	Recuento de microorganismos en UFC
Análisis proximal	*humedad *cenizas *proteína *fibra bruta	diferencia de peso gravimétrico	humedad (AOAC 964.22), cenizas (AOAC 945.38), proteína cruda método Kjeldahl (AOAC, 2001.11-2002), fibra bruta (AOAC 926.09).
Análisis colorimétrico	*L *C *H	CIELAB	Método (AOAC, 985.25)
Análisis sensorial	*color *olor *sabor *aroma	cataciones	Prueba hedónica no estructurada de 5 puntos

5.15.2. Factores de estudio

En el proceso de preparación de los caldos de cultivo para obtener la bebida fermentada y liofilizada en el marco de la investigación, se llevó a cabo un diseño experimental utilizando un modelo estadístico ANOVA de múltiples factores con un nivel de insignificancia de $p < 0.05$. Los resultados surgieron de la combinación de los tres factores investigados, las inflorescencias de jamaica con 3 niveles diferentes de concentraciones, tipos de sustratos azucarados y la concentración de sustratos azucarados con dos niveles. Esto generó un total de 12 tratamientos en un diseño $3 \times 2 \times 2$, estos tratamientos se lo realizaron por triplicado.

Tabla 5. Tratamientos

Réplica	Tratamientos	Combinaciones
I, II, III	t₁ (a₁b₁c₁)	Inflorescencias de jamaica 2,5 g + 80 g sacarosa
	t₂ (a₁b₁c₂)	Inflorescencias de jamaica 2,5 g + 60 g sacarosa
	t₃ (a₁b₂c₁)	Inflorescencias de jamaica 2,5 g + 80 g panela
	t₄ (a₁b₂c₂)	Inflorescencias de jamaica 2,5 g + 60 g panela.
I, II, III	t₅ (a₂b₁c₁)	Inflorescencias de jamaica 1,25 g + 80 g sacarosa
	t₆ (a₂b₁c₂)	Inflorescencias de jamaica 1,25 g + 60 g sacarosa
	t₇ (a₂b₂c₁)	Inflorescencias de jamaica 1,25 g + 80 g panela
	t₈ (a₂b₂c₂)	Inflorescencias de jamaica 1,25 g + 60 g panela
I, II, III	t₉ (a₃b₁c₁)	Inflorescencias de jamaica 0,625 g + 80 g sacarosa
	t₁₀ (a₃b₁c₂)	Inflorescencias de jamaica 0,625 g + 60 g sacarosa
	t₁₁ (a₃b₂c₁)	Inflorescencias de jamaica 0,625 g + 80 g panela
	t₁₂ (a₃b₂c₂)	Inflorescencias de jamaica 0,625 g + 60 g panela

6. RESULTADOS Y DISCUSION

6.1. Caracterización de las inflorescencias de jamaica

El pH es un parámetro que guarda relación con la acidez e influye en la aceptación organoléptica de los alimentos. Los resultados de la Tabla 6 muestran variación en el pH de las inflorescencias evaluadas, con un menor valor en la concentración (2.5g de inflorescencias/1000 ml), debido a una mayor cantidad de inflorescencias (Chicaiza G. & Flores G., 2016). Dentro de la densidad las tres

concentraciones de inflorescencias no presentan diferencias significativas, por lo tanto, no se determinó variación en la densidad; más, sin embargo, hay un aporte considerable en el color. La acidez titulable se ve influenciada por el pH, es decir mientras el pH desciende los valores de acidez se van incrementando y a mayor cantidad de inflorescencias mayor acidez. (Esparza-Aguilar, 2020).

El mayor contenido de polifenoles, flavonoides y capacidad antioxidante se relaciona también con la concentración de inflorescencias, a mayor concentración de inflorescencias, mayor contenido de compuestos antioxidantes se registra a consecuencia de los atributos que aporta la jamaica (Cabrera Carranza, 2022), como lo indica en la Tabla 6.

Tabla 6. Caracterización de las concentraciones de inflorescencias de jamaica.

Análisis	Concentraciones de inflorescencias		
	Inflorescencia 1	Inflorescencia 2	Inflorescencia 3
pH	2.97± 0.01 ^a	3.38± 0.03 ^b	4.28± 0.002 ^c
Densidad (g/ml)	1.0± 0.02 ^a	1.012± 0.04 ^{ab}	1.01± 0.01 ^{ab}
Acidez ácido acético %	0.035± 0.03 ^b	0.014± 0.02 ^a	0.017± 0.02 ^a
Polifenoles mg AG/100 ml	0.485±0.005 ^c	0.332±0.007 ^b	0.317±0.005 ^a
Flavonoides mg Quercetina/100 ml	0.464±0.03 ^c	0.184± 0.01 ^b	0.145± 0.02 ^a
Capacidad Antioxidante µg Trolox Eq /ml	74.314±0.90 ^c	47.108±0.66 ^b	32.500±0.67 ^a

*Inflorescencia 1: 2,5 g de flores de jamaica / 1000 ml de agua

*Inflorescencia 2: 1,25 g de flores de jamaica / 1000 ml de agua

*Inflorescencia 3: 0,625 g de flores de jamaica / 1000 ml de agua

*Media ± desviación estándar

6.1.1. Análisis de varianza para las variables de propiedades físico-químicas y compuestos antioxidantes

Las variables pH, acidez y sólidos solubles detallado en la Tabla 7, y los compuestos antioxidantes Tabla 8 fueron analizadas mediante normalidad, donde se estableció que todas cumplen con la ley normal; por ende, se procedió a seleccionar un modelo estadístico ANOVA de múltiples factores donde se puede evidenciar a detalle cada variable estudiada.

Los compuestos bioactivos de manera directa son los responsables de los efectos beneficiosos para la salud, dado que son procesados, absorbidos y metabolizados por el organismo, lo que amplía su potencial versatilidad como posibles enfoques terapéuticos (Lobo et al., 2017).

Tabla 7. Características físico-química a las 60 horas de fermentación

Tratamientos	pH	Acidez titulable	°Brix
T1	3,06±0.01 ^b	0,07±7.00 ^{E-04e}	8.17±0.003 ^h
T2	2.99±0.01 ^a	0,07±7.00 ^{E-04f}	6.36±0.003 ^d
T3	2,99±0.01 ^e	0,17±7.00 ^{E-04k}	7.56±0.003 ^g
T4	3,62±0.01 ^f	0,12±7.00 ^{E-04i}	6.61±0.003 ^e
T5	3,38±0.01 ^c	0,03±7.00 ^{E-04a}	7.59±0.003 ^g
T6	3,33±0.01 ^c	0,04±7.00 ^{E-04c}	6.46±0.003 ^d
T7	4,24±0.01 ^{ij}	0,12±7.00 ^{E-04j}	7.32±0.003 ^f
T8	4,12±0.01 ^h	0,09±7.00 ^{E-04h}	5.66±0.003 ^a
T9	3,94±0.01 ^g	0,06±7.00 ^{E-04d}	8.34±0.003 ⁱ
T10	3,52±0.01 ^d	0,03±7.00 ^{E-04b}	5.88±0.003 ^b
T11	4,29±0.01 ^j	0,09±7.00 ^{E-04g}	7.66±0.003 ^g
T12	4,23±0.01 ⁱ	0,07±7.00 ^{E-04f}	6.09±0.003 ^c

*Resultados expresados como la media ± error estándar. Los medios en una misma columna están indicados con superíndices que denota los grupos cuyos valores muestran diferencias estadísticas significativas (p<0,05).

Tabla 8. Características de compuestos antioxidantes iniciales y finales de la fermentación

Tratamientos	Polifenoles		Flavonoides		Cap. antioxidante	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
T1	0.77±0.01 ^f	0.58±0.01 ^d	3.81±0.12 ^c	3.75±0.12 ^c	66.3±2.92 ^{f-g}	11.28±2.92 ^g
T2	0.73±0.01 ^{e-f}	1.27±0.01 ^e	10.8±0.12 ⁱ	5.93±0.12 ^f	233.82±2.92 ^l	72.43±2.92 ^a
T3	1.07±0.01 ^{h-i}	0.68±0.01 ^k	7.3±0.12 ^g	3.82±0.12 ^g	273.04±2.92 ^m	33.82±2.92 ^h
T4	1.17±0.01 ^j	0.46±0.01 ^{i-j}	8.55±0.12 ^h	1.81±0.12 ^{d-e}	306.37±2.92 ⁿ	45.59±2.92 ^{c-e}
T5	0.48±0.01 ^{b-c}	1.12±0.01 ^b	1.55±0.12 ^a	4.65±0.12 ^{a-b}	45.22±2.92 ^{c-e}	48.51±2.92 ^{c-e}
T6	0.54±0.01 ^{c-d}	0.43±0.01 ^{a-b}	3.7±0.12 ^c	1.66±0.12 ^a	34.24±2.92 ^{b-c}	34.29±2.92 ^{b-c}
T7	1.03±0.01 ^h	1.08±0.01 ^{i-j}	11.37±0.12 ⁱ	4.23±0.12 ^{c-d}	214.22±2.92 ^k	52.45±2.92 ^{d-f}
T8	0.88±0.01 ^g	0.9±0.01 ^g	5.89±0.12 ^f	2.38±0.12 ^b	216.18±2.92 ^k	58.33±2.92 ^{e-g}
T9	0.46±0.01 ^b	0.46±0.01 ^b	3.71±0.12 ^c	1.35±0.12 ^a	24.09±2.92 ^{a-b}	37.08±2.92 ^{b-d}
T10	0.39±0.01 ^a	0.37±0.01 ^a	5.07±0.12 ^{c-d}	1.19±0.12 ^a	14±2.92 ^a	26.01±2.92 ^{a-b}
T11	1.34±0.01 ^l	1.13±0.01 ^{i-j}	8.57±0.12 ^h	7.29±0.12 ^c	246.57±2.92 ^l	93.63±2.92 ^{b-c}
T12	1.17±0.01 ^j	0.91±0.01 ^g	5.84±0.12 ^f	1.74±0.12 ^{a-b}	189.71±2.92 ^j	160.29±2.92 ⁱ

*Resultados expresados como la media ± acompañada de la desviación estándar. Los medios en una misma columna están indicados con superíndices a-l que denota los grupos cuyos valores muestran diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$).

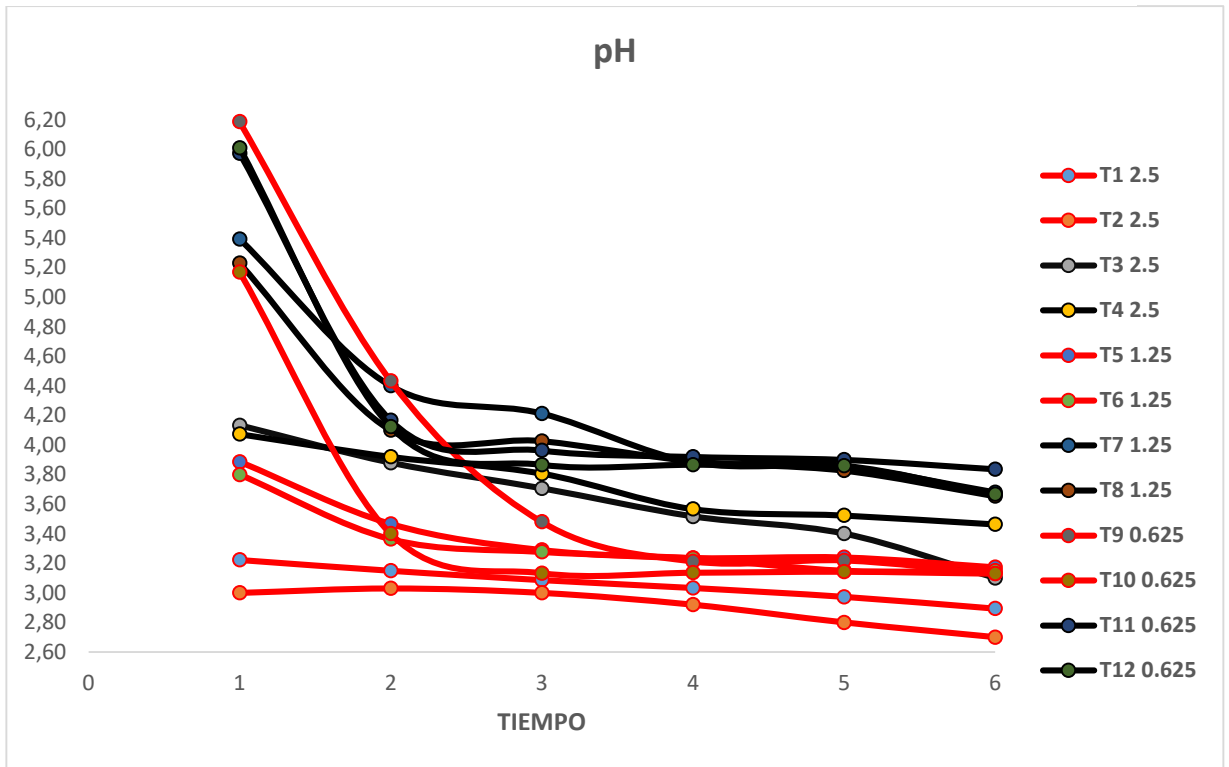
6.1.2. Comparación de medias mediante Tukey \pm EE para las variables pH, acidez y brix, polifenoles, flavonoides y cap. Antioxidante.

Mediante el análisis estadístico realizado entre los tratamientos y el tiempo aplicado en las variables de estudio, se pudo identificar que significativamente existió diferencia estadística en cada uno de ellos a las que se agregaron diferentes niveles de endulzante (panela y azúcar refinada) y concentración de inflorescencias de jamaica con relación al tamaño de las muestras experimentales.

6.1.3. Evolución de los parámetros físico químico y compuestos antioxidantes durante la fermentación

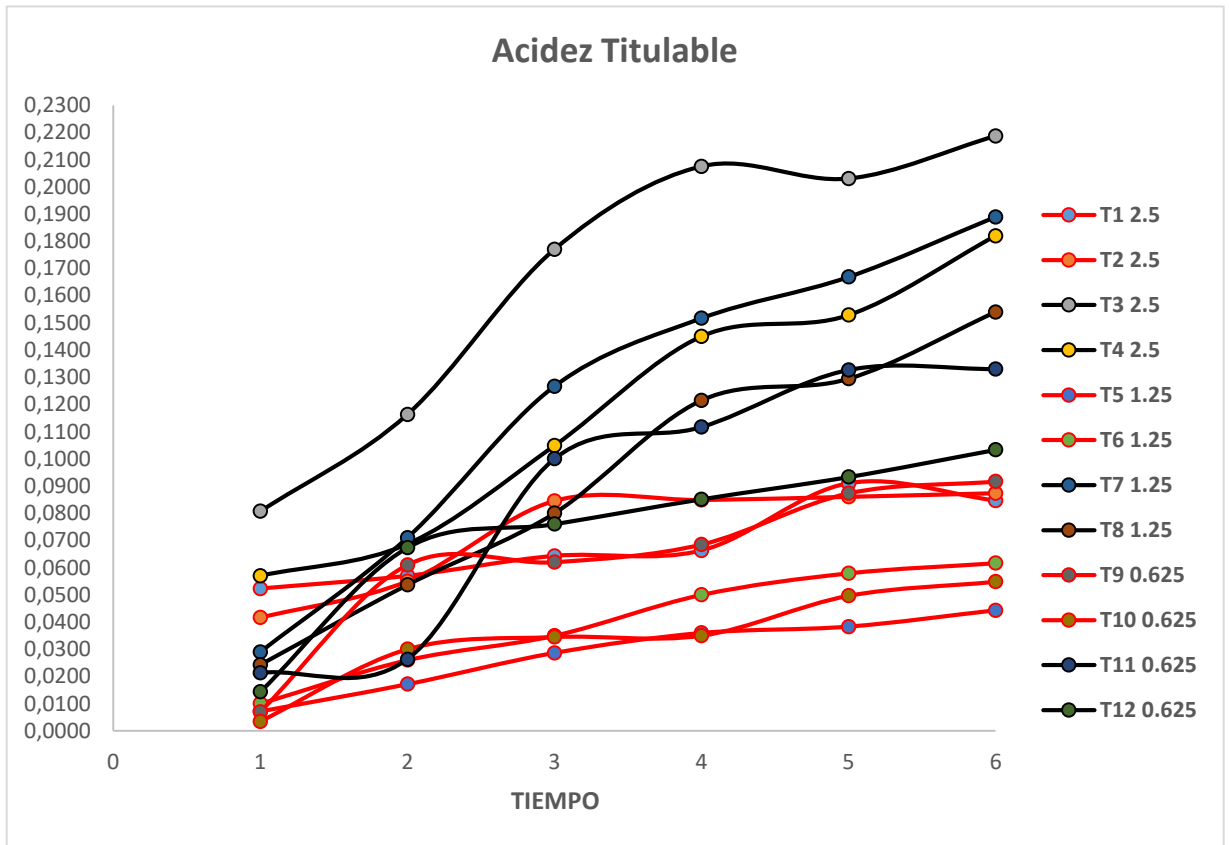
En la figura 3 se ilustra la variación del pH durante la fermentación utilizando diferentes concentraciones de inflorescencias de jamaica y diferente tipo de sustratos azucarados. Se puede apreciar que después de la inoculación, los valores iniciales de pH en las soluciones oscilan entre 6.2 y 3.0, experimentando una disminución rápida en las primeras 10 horas, y posteriormente manteniéndose en un rango promedio de alrededor de 2.7 y 3.8 a lo largo del proceso de fermentación, el pH en el proceso de fermentación y muestra una relación inversa con el tiempo, es decir, a medida que el tiempo transcurre, el pH tiende a disminuir (Donaires Quispe, 2018).

Figura 3. Interacción del pH durante las 60 horas de fermentación



Durante las 60 horas de fermentación, se puede apreciar que los tratamientos que endulzados con panela son los que mayor pH tienen al momento de iniciar el ciclo fermentativo; sin embargo, los que fueron endulzados con azúcar refinada tienen un pH más bajo. La sensibilidad del pH hace que las variaciones de origen microbiano ocurran con facilidad. Si el pH es superior, se vuelve altamente propenso a alteraciones microbianas. Por otro lado, un pH inferior resulta desfavorable para la progresión de la fermentación malo-láctica (Menéndez Cevallos & Burgos Briones, 2021). Para un pH óptimo los valores de fermentación reportado por (Cujilema Tene, 2021) oscila entre 4 y un promedio de 3.28, por lo cual nuestros datos están en el rango óptimo de una fermentación con el consorcio Scoby. La acidez titulable se ve influenciada en relación al pH, como lo indica en la figura 4; la acidez asciende considerablemente entre los tratamientos a medida que pasa en tiempo.

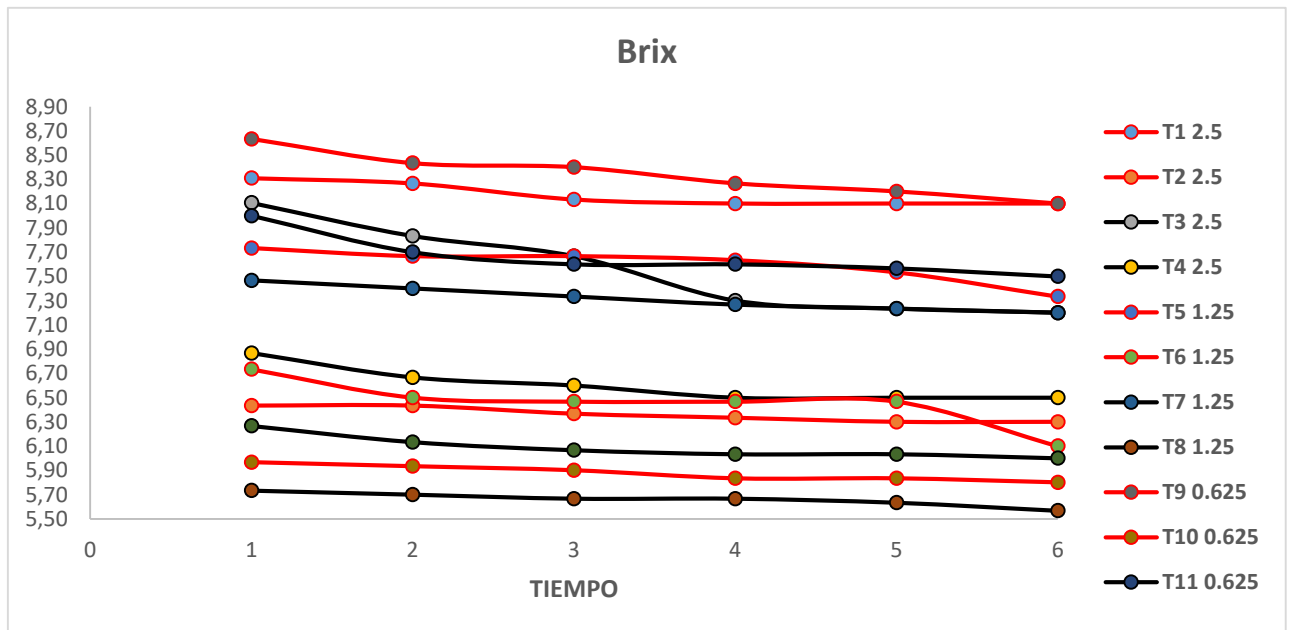
Figura 4. Interacción de la acidez titulable durante las 60 horas de fermentación



Debido a la fermentación con el consorcio Scoby los diferentes tratamientos tuvieron cierta variabilidad de acidez como se puede apreciar en la figura 4, tanto los tratamientos que fueron endulzados con panela tienen una acidez levemente más alta en comparación con los tratamientos endulzados con azúcar refinada debido a la formación de cantidades reducidas de ácido láctico, ácido acético, ácido succínico y ácido galacturónico durante el proceso de fermentación. Finalmente en la fermentación a una temperatura controlada, se produce una disminución del ácido tartárico, que se precipita en forma de bitartrato de potasio y calcio (Abanto & Martin, 2020). La panela, conocida como azúcar integral de caña, a diferencia del azúcar refinado, la panela conserva un alto contenido de nutrientes, vitaminas y minerales, gracias a su proceso de elaboración completamente natural, lo cual previene la pérdida de los componentes nutritivos presentes en este producto. (Grijalva-Vallejos et al., 2020).

En relación con los niveles de grados Brix detallados en la figura 5, los tratamientos experimentales que incorporan diversos endulzantes muestran inicialmente niveles de contenido de sólidos solubles que oscilan entre 8.0 y 5.0°Brix, indicando una disminución gradual en los sólidos totales, sugiriendo que el consorcio Scoby metabolizó una pequeña parte de los azúcares. (Duran et al., 2014). Los valores según el autor (Cujilema Tene, 2021) indica que el rango de sólidos solubles pretende en un promedio de 17,38 y esto se debe a la formulación. La sacarosa desempeña un papel fundamental en el proceso metabólico de la fermentación con el consorcio Scoby, esta sustancia sirve como fuente de energía, minerales y nitrógeno para el cultivo, y se transfieren a las inflorescencias de jamaica. (Lobo et al., 2017).

Figura 5. Interacción de los sólidos solubles totales en las 60 horas de fermentación



La cantidad de polifenoles experimentó cambios notables dentro de los 12 tratamientos los cuales se puede apreciar en las figuras 6, 7 y 8; según el autor (Menéndez Cevallos & Burgos Briones, 2021), menciona que su investigación mostro una disminución del 35 % al tercer día y del 59 % al séptimo día de fermentación valores comparables con la referencia. Este patrón refleja la relación inversa entre el contenido total de polifenoles y la duración de la fermentación, existe una tendencia variable por ejemplo: cuando los polifenoles son menores a <100 mg de ácido gálico (GAE), la capacidad antioxidante es mayor superando los >100 mg de capacidad antioxidante equivalente trolox (TEAC), esta tendencia se

verificó en la variabilidad de los resultados para el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante de la investigación (Tabla 8) (Pallares et al., 2016) . Los polifenoles y flavonoides constituyen elementos con aportes significativos en la alimentación humana, aunque no se clasifican como nutrientes se destacan por su fuerte capacidad antioxidante, siendo comunes en frutas y verduras dada su importancia desempeñan un papel crucial en la preservación de la salud, por lo que resulta relevante incorporarlas en la elaboración de productos que integren una dieta balanceada (Arenas Taípe & Díaz Ayón, 2020), en base a los resultados obtenidos se seleccionaron como mejores tratamientos aquellos que cumplen con estas propiedades activas, se determinaron como mejores tratamientos al T2, T5 y T11.

Figura 6. *Comportamiento inicial y final de los polifenoles*

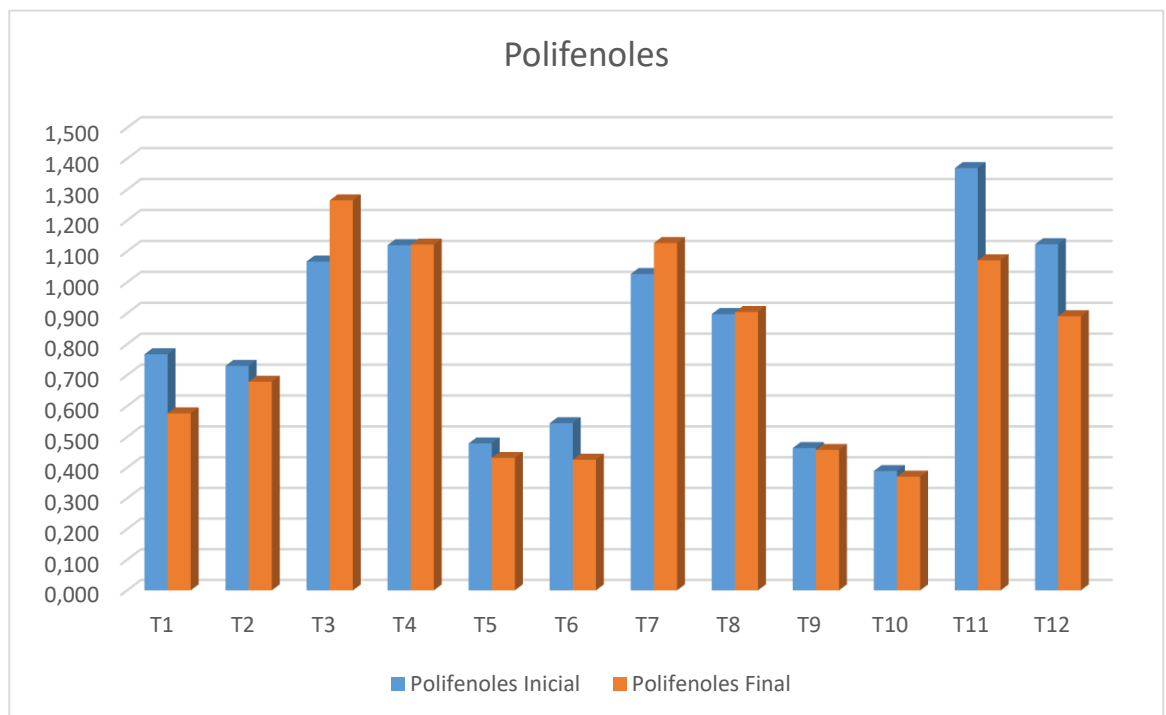


Figura 7. Comportamiento inicial y final de los flavonoides

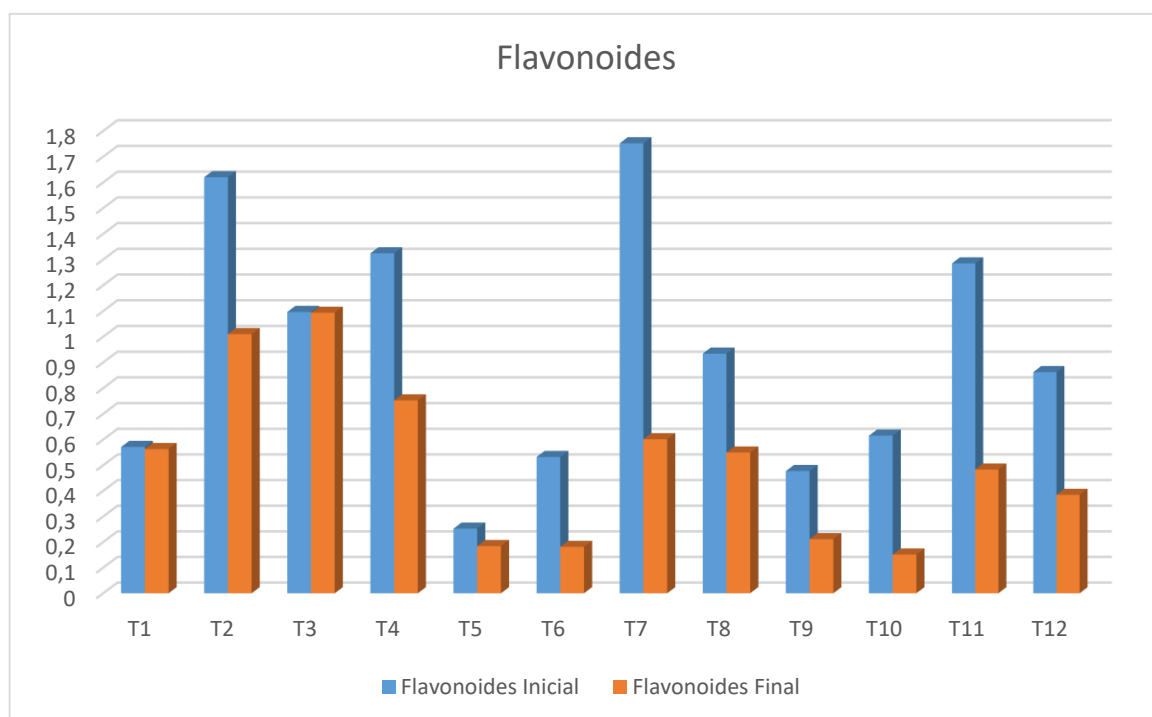
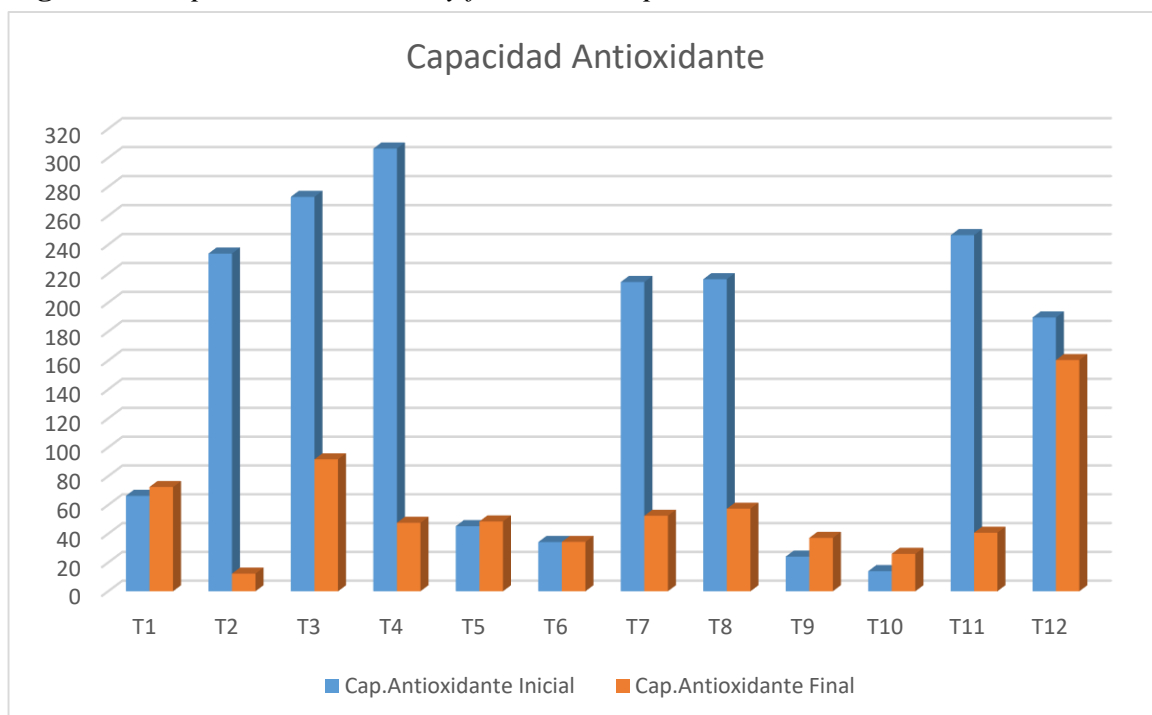


Figura 8. Comportamiento inicial y final de la Capacidad antioxidante



6.1.4. Recuento microbiológico de bacterias ácido lácticas

Tabla 9. Análisis microbiológico de Bacterias Acido Lácticas (BAL)

Tratamiento	Parámetro	Unidad	Método	Resultados	
				Fase líquida	Fase liofilizada
T2	Recuento de BAL	ufc/g	PEEMi/LA/40 Petrifilm PTM 041701	<10	<10
T5	Recuento de BAL	ufc/g	PEEMi/LA/40 Petrifilm PTM 041701	<10	<10
T11	Recuento de BAL	ufc/g	PEEMi/LA/40 Petrifilm PTM 041701	4.2x10 ³	<10

En la bebida se verificó la presencia de bacterias ácido lácticas en fase líquida para el tratamiento T11 (4.2x10³ UFC), según investigaciones científicas las bacterias ácido lácticas (BAL) contribuyen a la mejora de la salud gracias a los productos metabólicos generados por las actividades biológicas de los microorganismo, por lo tanto, la presencia de BAL inducen modificaciones en el entorno intestinal de forma positiva (Mera et al., 2019). En la tabla 9 se muestran los resultados del recuento microbiológico de los tres tratamientos, en la etapa de liofilización de la bebida fermentada de inflorescencias de jamaica el recuento microbiano disminuyó considerablemente, debido a que la resistencia de los microorganismos está ligada a factores inherentes, que incluyen la categoría taxonómica a la que pertenecen (género y especie, estabilidad genética; la capacidad de mantener un recuento elevado de células, alrededor de 1x10⁶ – 1x10⁷ UFC; temperatura de secado, el tamaño de los gránulos a secar y la humedad final del producto) (Vivek et al., 2023). Por lo tanto la severidad del proceso de liofilización no favoreció a la conservación de los microorganismos por lo cual para próximos estudios se recomienda utilizar lioprotectores, para incrementar la tasa de sobrevivencia microbiana (Rodríguez et al., 2023).

6.1.5. Análisis proximal

Con base a los resultados obtenido del análisis proximal, se puede observar que existe diferencia entre tratamientos respecto a las variables de estudio. Para la proteína se determinó un valor de 0.219% esto es crucial notar que, aunque la fermentación suele aumentar en términos generales la disponibilidad de proteínas,

algunas cepas bacterianas específicas podrían consumir y disminuir la cantidad de ciertos aminoácidos esenciales, lo que resultaría en una disminución del valor nutricional del alimento (Gómez-Gallego et al., 2020). La proteína obtenidos mediante la liofilización, según los hallazgos de Roa que indican un contenido del 0.94%, sugieren que los liofilizados de inflorescencias de jamaica analizados en esta investigación exhiben un porcentaje significativamente bajo de proteína en comparación con la referencia proporcionada por el autor mencionado (Roa Condori & Bolivar Viza, 2020) en relación con el contenido proteico según los resultados de la investigación; se observa que la fibra cruda presenta valores bajos. Es importante señalar que la fibra cruda tiende a exhibir valores considerablemente inferiores en comparación con la fibra dietética total. Este fenómeno se debe al enfoque más riguroso del método utilizado para calcular la fibra cruda, el cual se centra exclusivamente en el material que no es susceptible de descomposición (Morales, Miguel, 2016). Los porcentajes de humedad y ceniza en los liofilizados muestran variaciones con respecto a los datos obtenidos por Solari, quien logró reducir la humedad a 8.17% y mantener el contenido de cenizas en un bajo 1.39%. Estos resultados indican una mejora en la calidad del proceso de fermentación y liofilización, ya que se evidencia una reducción significativa en el contenido de humedad y una retención eficiente de bajos niveles de ceniza en comparación con los datos proporcionados por el mencionado autor (Solari-Godiño et al., 2017).

Tabla 10. *Análisis proximal*

Análisis	Contenido (%)		
	T2	T5	T11
Proteína	0.081±0.00 ^b	0.025±0.00 ^a	0.219±0.00 ^c
Fibra cruda	0.4±0.02 ^c	0.3005±0.00 ^b	0.15±0.02 ^a
Cenizas	0.23±0.01 ^b	0.17±0.00 ^a	0.8±0.02 ^c
Humedad	4.89±0.02 ^b	0.3424±0.00 ^a	6.06±0.02 ^c

*Resultados expresados como la media ± acompañada de la desviación estándar. Los medios en una misma columna están indicados con superíndices a-c que denota los grupos cuyos valores muestran diferencias estadísticas significativas (p<0,05).

6.1.6. Determinación de minerales

La determinación de minerales destaca al T11 como el mejor tratamiento con respecto al contenido de macro y microelementos a diferencia del tratamiento T2 y T5. (Gómez-Gallego et al., 2020).

En relación a los macroelementos, el T11 exhibió niveles elevados de fósforo, potasio y calcio, registrando concentraciones de (0.031, 0.384 y 0.051 mg %), respectivamente. En cuanto al contenido de hierro, se observó una concentración de 9.38 mg/L. De acuerdo con las pautas del Instituto de Medicina de Estados Unidos, se estima que una persona adulta promedio requiere aproximadamente 8 mg de hierro al día para cubrir sus necesidades diarias. (Obregón La Rosa et al., 2021). El contenido de cobre es inferior a 0.10 dado que el cobre desempeña un papel crucial como componente enzimático vinculado al metabolismo del hierro, se estima que una ingesta diaria de aproximadamente 0.7 a 0.9 mg de cobre es necesaria para satisfacer los requerimientos nutricionales (Obregón La Rosa et al., 2021). Las concentraciones de sodio (Na), hierro (Fe) y magnesio (Mg) mostraron niveles elevados, según el estudio llevado a cabo por el autor (de Carvalho Augusto, 2020). Se observó que los valores de sodio y magnesio fueron bajos, mientras que el hierro presentó concentraciones altas. Se plantea que las variaciones en los porcentajes en peso pueden atribuirse a diversos factores, tales como la variante de la cepa utilizada, así como el estado metabólico el tipo de sustrato (azúcar o panela).

Tabla 11. *Determinación de macro y microelementos*

Identificación	T2	T5	T11
P (%)	0.0003±0.00 ^b	0.0001±0.00 ^a	0.031±0.00 ^c
K (%)	0.045±0.00 ^a	0.044±0.00 ^a	0.384±0.00 ^b
Ca (%)	0.049±0.00 ^{ab}	0.043±0.00 ^a	0.051±0.00 ^b
Mg (%)	0.006±0.00 ^a	0.007±0.00 ^a	0.024±0.00 ^b
S (%)	0.003±0.00 ^a	0.004±0.00 ^a	0.027±0.00 ^b
Na (ppm)	0.017±0.00 ^b	0.008±0.00 ^a	0.003±0.00 ^a
B (ppm)	6.40±0.08 ^c	1.70±0.01 ^b	1.10±0.03 ^a
Zn (ppm)	9.80±0.04 ^c	5.10±0.06 ^b	4.50±0.05 ^a
Cu (ppm)	0.16±0.01 ^b	<0.10±0.01 ^a	<0.10±0.01 ^a
Fe (ppm)	5.09±0.02 ^b	4.97±0.02 ^a	9.38±0.02 ^c
Mn (ppm)	1.27±0.02 ^b	0.67±0.03 ^a	1.30±0.07 ^b

*Resultados expresados como la media ± error estándar. Los medios en una misma fila están indicados con superíndices que denota los grupos cuyos valores muestran diferencias estadísticas significativas (p<0,05).

6.1.7. Análisis estadístico de la variación de color de las bebidas fermentadas de jamaica

Tabla 12. Análisis de varianza de color

Tratamientos	L*	C*	H*
Tratamiento 2	57.57±4.61 ^a	17.85±0.78 ^c	348.91±1.01 ^c
Tratamiento 5	56.83±4.61 ^a	21.02±0.78 ^b	343.62±1.01 ^b
Tratamiento 11	47.81±4.61 ^b	27.52±0.78 ^a	34.43±1.01 ^a
p-valué	0.02639	<0,0001	<0,0001

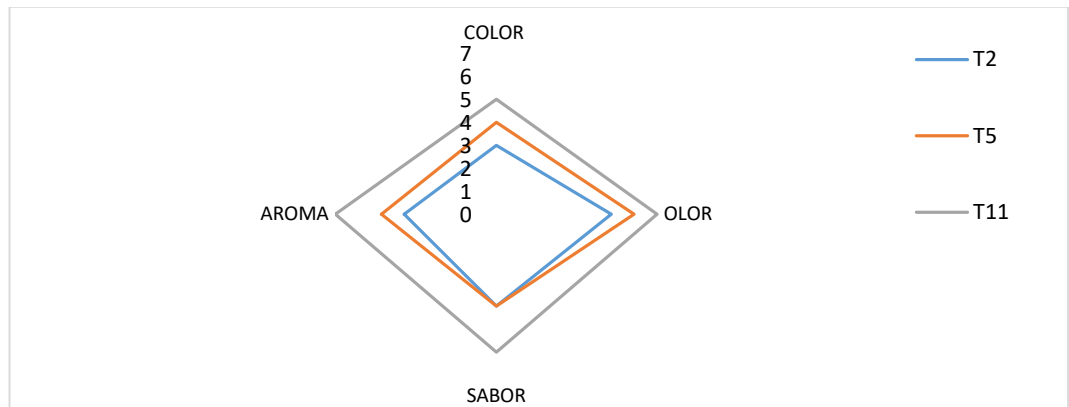
*Resultados expresados como la media ± acompañada de la desviación estándar. Los medios en una misma fila están indicados con superíndices a-c que denota los grupos cuyos valores muestran diferencias estadísticas significativas (p<0,05).

Mediante el análisis de varianza (ANOVA), se pudo identificar que la luminosidad, croma y el tono en relación a los tratamientos (T2; T5 y T11) incidieron de manera significativa a nivel estadístico, ya que el p-valué es (<0.05). Esto se debe al proceso fermentativo y a la formulación planteada, el color del tratamiento 11 está influenciado por la presencia de azúcares como la sacarosa y fructosa, sales minerales y otros constituyentes de la panela (Martínez et al., 2016). En las características de los colores (L*, C* y H*) desde el inicio hasta el final de la fermentación se ven influenciado a la cantidad de concentraciones de inflorescencias de jamaica (Jahidul & Kabir, 2019), reflejándose en la intensidad del color con respecto a su luminosidad en intersección con su cromaticidad y tonalidad.

6.2. Evaluación sensorial

A partir de la evaluación, la capacidad antioxidante, los niveles de polifenoles y flavonoides, así como de los parámetros físico-químicos, se identificaron como los tratamientos más destacados fueron: T2, T5 y T11 después de un proceso de fermentación y liofilización bajo condiciones controladas. Se llevo a cabo la evaluación sensorial, se contó con la participación de un grupo de catadores semi-entrenados, compuesto hombres y mujeres con edades comprendidas entre los 20 y 45 años, quienes desempeñan sus labores en la Estación Experimental Santa Catalina del INIAP. A estos catadores se les proporcionaron muestras del producto y se les administró el instrumento de evaluación, lo que permitió determinar cuál de las tres bebidas fermentadas y liofilizadas resultó ser la mejor en términos de calidad y aceptación.

Figura 9. Evaluación sensorial de las bebidas fermentadas de jamaica



Los catadores evaluaron el parámetro de aceptabilidad según las categorías de "Me gusta mucho", "Me gusta", "ni me gusta ni me disgusta", "Me disgusta" y "me disgusta mucho", se pudo observar (ver Figura 9) que el tratamiento T11 de la bebida fermentada de jamaica (0.625g de inflorescencia de jamaica/8% panela) obtuvo una alta aceptación en términos de color, olor, sabor y aroma. Este tratamiento se destacó como el mejor en términos de características sensoriales agradables, convirtiendo la bebida en una opción atractiva e innovadora para los catadores.

7. CONCLUSIONES

- El consorcio Scoby tuvo influencia en el proceso de fermentación lo cual se evidencia la disminución del pH y los sólidos solubles mientras que la acidez tuvo un aumento.
- La bebida fermentada en concentración de 0.625g inflorescencias de jamaica y al 8% de panela determinado como el mejor tratamiento experimentó un descenso en su contenido de compuestos antioxidantes, esto se debió a la fermentación y a los minerales presentes en la panela.
- Los datos arrojados en el recuento microbiológico de bacterias ácido lácticas se evidenció que la liofilización no favoreció en lo absoluto la presencia de microorganismos benéficos, cabe mencionar que en la fase líquida al final de la fermentación si se evidenció bacterias ácido lácticas 4.2×10^3 UFC/g presente en el T11.

- En base al análisis sensorial reveló que los catadores prefirieron la bebida liofilizada con una concentración de 0.625 g de flores de jamaica endulzada con panela en proporción del 8% (Tratamiento T11).
- En este estudio se introduce una novedosa técnica como opción de una bebida fermentada y liofilizada que contiene compuestos bioactivos y propiedades activas, utilizando inflorescencias de jamaica.

8. RECOMENDACIONES

- Es fundamental investigar los posibles usos de la flor de jamaica debido a su origen en los Andes y Amazonia gracias a su riqueza en antioxidantes, vitaminas y minerales.
- Se sugiere llevar a cabo un análisis molecular para una identificación precisa de las cepas bacterianas y de levadura que conforman el consorcio del hongo Scoby.
- Se recomienda al momento de la liofilización tener en cuenta ya que este método al ser susceptible a la presencia de humedad del ambiente puede generar que los productos finales se deterioren y por ende no quede con las características adecuadas a un liofilizado teniendo en cuenta que, si se requiere un alimento o bebida probiótica, esta influye mucho ya que este microorganismo no resiste a ciertas presiones y tiempo de exposición ante esta tecnología.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Abanto, J. R. R., & Martin, W. E. C. (2020). Evaluación de la fermentación de una bebida alcohólica a partir de aguaymanto (*Physalis peruviana*). *INGnosis*, 6(1), Article 1. <https://doi.org/10.18050/ingnosis.v6i1.2556>
- Alfonso-Acosta, Y., Pérez-Rojas, A., Yll-Lavín, M., Alfonso-Acosta, Y., Pérez-Rojas, A., & Yll-Lavín, M. (2019). Diseño de un biorreactor para la producción de inóculo de *Salmonella enteritidis*. *Revista Cubana de Química*, 31(1), 120-136. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S2224-54212019000100120&lng=es&nrm=iso&tlng=en

- Apaza, Mamani, V., & Choque, Mamani, R. (2018). *Evaluación de la actividad antioxidante y polifenoles totales de una bebida fermentada a base de betarraga (beta vulgaris L.) de la variedad globe dark* [Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa]. <https://repositorio.unsa.edu.pe/items/49f97c85-ccd1-4816-839d-bd8e423d05de>
- Arenas Taipe, T. Y., & Díaz Ayón, I. S. (2020). Capacidad antioxidante del aguaymanto (*Physalis peruviana L.*) en tres presentaciones para el consumo humano. *Repositorio Institucional - UNIFE*. <https://repositorio.unife.edu.pe/repositorio/handle/20.500.11955/725>
- Assegehegn, G., Fuente, E. B. la, Franco, J. M., & Gallegos, C. (2019). The Importance of Understanding the Freezing Step and Its Impact on Freeze-Drying Process Performance. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 108(4), 1378-1395. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2018.11.039>
- Berner, D., & Viernstein, H. (2006). Effect of protective agents on the viability of *Lactococcus lactis* subjected to freeze-thawing and freeze-drying. *Scientia Pharmaceutica*, 74(3), Article 3. <https://doi.org/10.3797/scipharm.2006.74.137>
- Cabrera Carranza, A. A. (2022). *Investigación del valor nutricional y funcional de la flor de jamaica en la elaboración de mermeladas*. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/16169>
- Cabrera-Carrión, J. L., Jaramillo-Jaramillo, C., Dután-Torres, F., Cun-Carrión, J., García, P. A., & Rojas de Astudillo, L. (2017). Variación del contenido de alcaloides, fenoles, flavonoides y taninos en *Moringa oleifera* Lam. En función de su edad y altura. *Bioagro*, 29(1), 53-60. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1316-33612017000100006&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Carvalho, A. S., Silva, J., Ho, P., Teixeira, P., Malcata, F. X., & Gibbs, P. (2004). Relevant factors for the preparation of freeze-dried lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 14(10), 835-847. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.02.001>
- Castañeda, R., & Cáceres, A. (2014). Compuestos bioactivos y propiedades terapéuticas de los cálices de rosa de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* Linn.). *Revista*

Científica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, 24(1), 7-24.
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5069949>

Chakravorty, S., Bhattacharya, S., Chatzinotas, A., Chakraborty, W., Bhattacharya, D., & Gachhui, R. (2016). Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. *International Journal of Food Microbiology*, 220, 63-72.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.12.015>

Chicaiza G., V. G., & Flores G., E. A. (2016). *Evaluación de extracción, encapsulación y capacidad antioxidante de las antocianinas de la flor de Jamaica (Hibiscus sabdariffa L.)* [Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2016.].
<https://bdigital.zamorano.edu/handle/11036/5760>

Coelho, R. M. D., Almeida, A. L. de, Amaral, R. Q. G. do, Mota, R. N. da, & Sousa, P. H. M. de. (2020). Kombucha: Review. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 22, 100272. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2020.100272>

Cujilema Tene, G. A. (2021). *Bebidas funcionales desarrolladas a partir de una comunidad simbiótica de levaduras y bacterias (Scoby)*. [Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/15538>

David Barroeta Bonilla, Bárbara Arteaga Ballesteros, Kevin Luis Vinalay Romero, & Rocío Ramírez Rodríguez. (2019). *Obtención de celulosa bacteriana en co-cultivo de microalgas inmovilizadas en alginato* [Revista]. ACONTACS.
https://www-optica.inaoep.mx/~tecnologia_salud/acontacs/articulos/2019/MyT2019-170-obtencion_de_celulosa_bacteriana_mediante_el_co-cultivo_simbiotico_de_algas_inmovilizadas.php

de Carvalho Augusto, R. (2020). *La primera sonda de electrones de microanálisis de rayos x de la composición elemental del producto liofilizado de latex de euphorbia milii var. hislopilii y su impacto en el macho de schistosoma mansoni*.

Donaires Quispe, L. (2018). Fermentación del mosto de caña de azúcar (saccharum officinarum) con uso de catalizadores naturales y comerciales para obtener aguardiente—Pachachaca – Abancay- 2018. *Universidad Tecnológica de los Andes*. <https://repositorio.utea.edu.pe/handle/utea/205>

Duarte, Valenzuela, Z. N., Zamora, Gasga, V. M., Montalvo, González, E., & Sáyago, Ayerdi, S. G. (2016). Caracterización nutricional de 20 variedades

- mejoradas de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) Cultivadas en México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 39(3), 199-206. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61046936003>
- Duran, D. O., Trujillo, Y. N., & Mejía, K. G. (2014). Capacidad de producción de alcohol de levaduras vinícolas sobre un sustrato a base de panela. *@limentech, Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 12(1), Article 1. <https://doi.org/10.24054/16927125.v1.n1.2014.499>
- Dutta, H., & Paul, S. K. (2019). 8 - Kombucha Drink: Production, Quality, and Safety Aspects. En *Production and Management of Beverages* (Vol. 1, pp. 259-288). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815260-7.00008-0>
- Esparza-Aguilar, M. E. (2020). Cosecha y poscosecha de flor de jamaica y hierba luisa orgánica en el sector “la era” del canton Catamayo, provincia de Loja. *Revista Investigación Agraria*, 2(3), Article 3. <https://doi.org/10.47840/ReInA.2.3.899>
- Ezzat, S. M., Salama, M. M., Seif el-Din, S. H., Saleh, S., El-Lakkany, N. M., Hammam, O. A., Salem, M. B., & Botros, S. S. (2016). Metabolic profile and hepatoprotective activity of the anthocyanin-rich extract of *Hibiscus sabdariffa* calyces. *Pharmaceutical Biology*, 54(12), 3172-3181. <https://doi.org/10.1080/13880209.2016.1214739>
- Fan, K., Zhang, M., & Mujumdar, A. S. (2019). Recent developments in high efficient freeze-drying of fruits and vegetables assisted by microwave: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(8), 1357-1366. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1420624>
- Freitas, A., Sousa, P., & Wurlitzer, N. (2022). Alternative raw materials in kombucha production. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 30, 100594. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2022.100594>
- Gómez Rodríguez, S. L. (2022). *Evaluación in vitro de las propiedades probióticas de bacterias ácido-lácticas aisladas del Queso Doble Crema* [Trabajo de grado - Maestría, Universidad Nacional de Colombia]. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/83317>
- Gómez-Gallego, C., Gueimonde Fernández, M., Karlund, A., & Salminen, S. (2020). *El papel de los alimentos fermentados en la alimentación*. <https://digital.csic.es/handle/10261/238276>

- Grijalva-Vallejos, N., Aranda, A., & Matallana, E. (2020). Evaluation of yeasts from Ecuadorian chicha by their performance as starters for alcoholic fermentations in the food industry. *International Journal of Food Microbiology*, 317, 108462. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108462>
- Guzman Ortiz, M. (2021). *Resistencia de microorganismos aislados de kombucha a condiciones del tracto gastrointestinal in vitro* [Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco.]. <http://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1023/766>
- Hernández Sosa, I. U. (2019). *Integración de una red socio-productiva para el aprovechamiento de jamaica (Hibiscus sabdariffa) bajo principios de economía solidaria en la Costa de Oaxaca*. http://literatura.ciidiroaxaca.ipn.mx:8080/xmlui/handle/LITER_CIIDIROAX/611
- Hidalgo, Villatoro, S. G., Cifuentes-Reyes, W. A. de L., Ruano-Solís, H. H., & Cano-Castillo, L. E. (2009). Caracterización de trece genotipos de rosa de jamaica *Hibiscus sabdariffa* EN GUATEMALA. *Agronomía Mesoamericana*, 20(1), 101-109. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43711514011>
- Islam, Md. Z., Uddin, Md. E., Rahman, Md. T., Islam, M. A., & Harun-ur-Rashid, Md. (2021). Isolation and characterization of dominant lactic acid bacteria from raw goat milk: Assessment of probiotic potential and technological properties. *Small Ruminant Research*, 205, 106532. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2021.106532>
- Izquierdo, Vega, J. A., Arteaga, Badillo, D. A., Sánchez, Gutiérrez, M., Morales, González, J. A., Vargas-Mendoza, N., Gómez, Aldapa, C. A., Castro, Rosas, J., Delgado, Olivares, L., Madrigal, Bujaidar, E., & Madrigal, Santillán, E. (2020). Organic Acids from Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.)-A Brief Review of Its Pharmacological Effects. *Biomedicines*, 8(5), 100. <https://doi.org/10.3390/biomedicines8050100>
- Jahidul, I., & Kabir, Y. (2019). *Effects and mechanisms of antioxidant-rich functional beverages on disease prevention* (pp. 157-198).
- Julia Espinosa-Manfugás ; (s. f.). *Evaluación Sensorial de los alimentos* (1.^a ed.). Editorial Universitaria. Recuperado 6 de diciembre de 2023, de <https://isbn.cloud/9789591605399/evaluacion-sensorial-de-los-alimentos/>

Lobo, R., Dias, F. O., & Shenoy, C. K. (2017). Kombucha for healthy living: Evaluation of antioxidant potential and bioactive compounds. *International Food Research Journal*, 24, 541-546.

Martínez, J. M., Enríques, H. A., Sánchez, D. E., & Mora, O. O. (2016). Evaluación de algunas condiciones de almacenamiento sobre la colorimetría de un producto confitado a base de panela (melcocha)/evaluation of some storage conditions on the colorimetry of a confit product made from panela (melcocha). 2016, S460-S463. <https://www.proquest.com/docview/1783661246?pq-origsite=gscholar&fromopenview=true&sourcetype=Scholarly%20Journals>

Martínez Leal, J., Valenzuela Suárez, L., Jayabalan, R., Huerta Oros, J., & Escalante-Aburto, A. (2018). A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. *CyTA - Journal of Food*, 16(1), 390-399. <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1410499>

Menéndez Cevallos, L. T., & Burgos Briones, G. A. (2021). Efectos de la fermentación y secado en el contenido de polifenoles y alcaloides del cacao. *Dominio de las Ciencias*, 7(Extra 5), 1280-1304. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8383827>

Mera, J. A. B., Verduga, G. C. V., Andrade, V. V. A., Muñoz, W. A. G., & Mendoza, J. J. G. (2019). Evaluación de parámetros físico-químicos y organolépticos de una leche fermentada enriquecida con quinua (*Chenopodium quinoa*). *La Técnica. Revista de las Agrociencias*. ISSN 2477-8982, 22, Article 22. https://doi.org/10.33936/la_tecnica.v0i22.1716

Montaño Arango, Oscar., Corona Armenta, Jose., Rivera Gómez, Hector., Martínez Muñoz, Enriquez., & Anaya Fuentes, Gustavo Erick. (2023). Evaluación del nivel competitivo de un desinfectante de alimentos desarrollado a partir de cálices de flor de Jamaica. *Revista CEA*, 9(19), 2315. <https://doi.org/10.22430/24223182.2315>

Morales, Miguel. (2016). *Análisis bromatológico y determinación de factores tóxicos naturales de los hongos silvestres morochike (amanita caesarea) y sojachi (amanita rubescens) en forma natural y cocidos, consumidos en la Sierra Tarahumara de Chihuahua*. Repositorio de Tesis DGBSDI. <https://ru.dgb.unam.mx/handle/20.500.14330/TES01000740775>

Murcia, K. S., & Castañeda, M. del R. (2022). Evaluación del contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante de extractos etanólicos de la cáscara de cacao (*Theobroma cacao* L.). *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 13(2), 53-66. <http://portal.amelica.org/ameli/journal/130/1303297002/>

Navidad, Murrieta, M. S., Pérez, Larios, A., Sánchez, Burgos, J. A., Ragazzo, Sánchez, J. A., Luna, Bárcenas, G., & Sáyago, Ayerdi, S. G. (2020). Use of a Taguchi Design in Hibiscus sabdariffa Extracts Encapsulated by Spray-Drying. *Foods*, 9(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/foods9020128>

Nicholls Posada, J. E., & Ramírez García, J. A. (2014). Usos y aplicaciones medicinales e industriales de la flor de Jamaica. *instname:Universidad Nacional Abierta y a Distancia*. <http://repository.unad.edu.co/handle/10596/2727>

Nyhan, L., Lynch, K., Sahin, A., & Arendt, E. (2022). Advances in Kombucha Tea Fermentation: A Review. 2022-01-15. <https://doi.org/10.3390/applmicrobiol2010005>

Obando, P. (2010). *La Panela, Valor Nutricional Y Su Importancia En La Gastronomía* [bachelorThesis]. <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/2247>

Obregón La Rosa, A. J., Lozano Zanelly, G. A., Obregón La Rosa, A. J., & Lozano Zanelly, G. A. (2021). Compuestos nutricionales y bioactivos de tres frutas provenientes de la sierra y la selva de Perú como fuente potencial de nutrientes para la alimentación humana. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 22(2). https://doi.org/10.21930/rcta.vol22_num2_art:1835

Pallares, A. P., Estupiñán, M., Villamil, J. A. P., & Giraldo, L. J. L. (2016). Impacto de la fermentación y secado sobre el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante del clon de cacao CCN-51. *Revista ION*, 29(2), Article 2. <https://doi.org/10.18273/revion.v29n2-2016001>

Quettier-Deleu, C., Gressier, B., Vasseur, J., Dine, T., Brunet, C., Luyckx, M., Cazin, M., Cazin, J.-C., Bailleul, F., & Trotin, F. (2000). Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *Journal of Ethnopharmacology*, 72(1), 35-42. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(00\)00196-3](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00196-3)

- Riaz, G., & Chopra, R. (2018). A review on phytochemistry and therapeutic uses of *Hibiscus sabdariffa* L. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *102*, 575-586. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.03.023>
- Ricaurte, Heredia, A. S. (2020). *Determinación de la viabilidad del Acetobacter acetii y saccharomyces cerevisiae presentes en el Medusomyces gisevi (hongo kombucha) para una posible aplicación en la agroindustria, mediante la utilización de tres sustratos* [Escuela Superior Politecnica de Chimborazo]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/15506>
- Roa Condori, B. P., & Bolívar Viza, M. S. (2020). *Evaluación de la variabilidad de la capacidad antioxidante y contenido fenólico de fruto maduro de Prunus serotina (cerezo), fruto liofilizado y mermelada*. <http://hdl.handle.net/20.500.12773/11554>
- Rodríguez, M. P. Q., Arango, D. M., Posada, D. C. R., & Gil, D. M. G. (2023). Conservación de bacterias por liofilización en la Colección de Microorganismos CM-EM-UDEA, Medellín, Colombia. *Biota Colombiana*, *24*(2), Article 2. <https://doi.org/10.21068/2539200X.1127>
- Rosado Coraizaca, K. (2020). *Aplicación de abonos orgánicos en la producción del cultivo flor de jamaica (Hibiscus sabdariffa L.), RECINTO HIGUERÓN SANTA LUCIA* [Tesis, Universidad Agraria del Ecuador]. <https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/ROSADO%20CORAIZACA%20KERLY%20JANNETH.pdf>
- Salamanca G, G., Osorio T, M. P., & Montoya, L. M. (2010). Elaboración de una bebida funcional de alto valor biológico a base de borojo (*Borojoa patinoi* Cuatrec). *Revista chilena de nutrición*, *37*(1), 87-96. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182010000100009>
- Sarkar, S. (2018). Whether viable and dead probiotic are equally efficacious? *Nutrition & Food Science*, *48*(2), 285-300. <https://doi.org/10.1108/NFS-07-2017-0151>
- Silva, J. I., Cerda, R. B., & Hernández, M. C. (2013). Uso de Tecnologías Emergentes para la Elaboración de Bebidas Funcionales (Aloe Vera) | *Acta Química Mexicana*. 2013-06-29, 5(9), 4. <http://www.actaquimicamexicana.uadec.mx/?p=566>

Solari-Godiño, A., Córdova-Ramos, J. S., Pilco-Quesada, S., Cerrón-Mallqui, L. M., Albrecht-Ruiz, M., & Sánchez Hernández, J. (2017). Composición proximal y propiedades funcionales del surimi liofilizado de *Dosidicus gigas* «calamar gigante». *Scientia Agropecuaria*, 8(1), 57-62. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2017.01.05>

Suárez-Rebaza, L. A., de Albuquerque, R. D. D. G., Zavala, E., Alva-Plasencia, P. M., Ganoza-Suárez, M. M., Ganoza-Yupanqui, M. L., & Bussmann, R. W. (2023). Chemical composition and antioxidant capacity of purified extracts of *Prosopis pallida* (Humb. & Bonpl. Ex Willd.) Kunth (Fabaceae) fruits from Northern Peru. *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas*, 22(5), 594-606. Scopus. <https://doi.org/10.37360/blacpma.23.22.5.43>

Valencia, Avilés, E., Ignacio, Figueroa, I., Sosa, Martínez, E., Bartolomé, Camacho, M. C., Martínez, Flores, H. E., & García, Pérez, M.-E. (2017). Polifenoles: Propiedades antioxidantes y toxicológicas. *Revista de la Facultad de Ciencias Químicas*, 16, Article 16. <https://publicaciones.ucuenca.edu.ec/ojs/index.php/quimica/article/view/1583>

Vargas, B. K., Fabricio, M. F., & Záchia Ayub, M. A. (2021). Health effects and probiotic and prebiotic potential of Kombucha: A bibliometric and systematic review. *Food Bioscience*, 44, 101332. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101332>

Vargas, Lopez, J., & Vargas, Mora, F. (2011). *Elaboración de una bebida refrescante fermentando la simbiosis kombucha con el objeto de mejorar la calidad de vida de los consumidores de bebidas no alcohólicas* [Universidad Técnica de Ambato]. <https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/1759>

Velicanski, A., Cvetkovic, D., Markov, S., Saponjac, V., & Vulic, J. (2015). *Antioxidant and Antibacterial Activity of the Beverage Obtained by Fermentation of Sweetened Lemon Balm (Melissa officinalis L.) Tea with Symbiotic Consortium of Bacteria and Yeasts*. 52(4), 420-429. <https://doi.org/10.17113/ftb.52.04.14.3611>

Veloz Pinto, K. L. (2022). Determinación de las Potencialidades del Cáliz de *Hibiscus sabdariffa* (Flor de Jamaica) para la elaboración de Cosmeceuticos en el cantón Guayaquil de Octubre a Diciembre del 2021 [masterThesis]. En *Repositorio de la Universidad Estatal de Milagro*. <http://repositorio.unemi.edu.ec/xmlui/handle/123456789/6001>

- Villaroel, Soto, S., Beaufort, S., Bouajila, J., Souchard, J. P., & Taillandier, P. (2018). *Understanding Kombucha Tea Fermentation: A Review*. 83(3), 580-588. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14068>
- Viteri Borja, J.G., Parraga Alava, R.C., García Mendoza, J. J., Barre Zambrano, R. L., & Romero Bravo, J. P. (2022). Calidad fisicoquímica y sensorial de cerveza artesanal estilo blonde ale con infusión de flor deshidratada de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*). 2022-12-17, 19(4), 331-339. <http://dx.doi.org/10.57188/manglar.2022.042>
- Vivek, K., Mishra, S., Pradhan, R. C., Nagarajan, M., Kumar, P. K., Singh, S. S., Manvi, D., & Gowda, N. N. (2023). A comprehensive review on microencapsulation of probiotics: Technology, carriers and current trends. *Applied Food Research*, 3(1), 100248. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100248>
- Waterhouse, A. L. (2002). Determination of Total Phenolics. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 6(1), II.1.1-II.1.8. <https://doi.org/10.1002/0471142913.fai0101s06>

10. ANEXOS

10.1. Análisis de varianza de pH

Ph					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
Ph	216	1	0.99	1.49	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	111.85	71	1.58	515.72	<0,0001
Tratamiento	42.46	11	3.86	1263.53	<0,0001
Tiempo	45.44	5	9.09	2975.18	<0,0001
Tratamiento*Tiempo	23.95	55	0.44	142.58	<0,0001
Error	0.44	144	3.10E-03		
Total	112.29	215			

*SC: suma de los cuadrados

*gl: grados de libertad

*CM: cuadro medio

*C: coeficiente

*p-valor: <0.0001

10.2. Análisis de varianza de acidez

Acidez					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
Acidez	216	1	1	3.65	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.59	71	0.01	951.75	<0,0001
Tratamiento	0.32	11	0.03	3354.5	<0,0001
Tiempo	0.2	5	0.04	4675.3	<0,0001
Tratamiento*Tiempo	0.06	55	1.20E-03	132.69	<0,0001
Error	1.30E-03	144	8.70E-06		
Total	0.59	215			

*SC: suma de los cuadrados

*gl: grados de libertad

*CM: cuadro medio

*C: coeficiente

*p-valor: <0.0001

10.3. Análisis de varianza de brix

Brix					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
Brix	216	0.99	0.98	1.76	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	168.6	71	2.37	158.05	<0,0001
Tratamiento	163.66	11	14.88	990.27	<0,0001

Tiempo	3.27	5	0.65	43.57	<0,0001
Tratamiento*Tiempo	1.66	55	0.03	2.01	0.0005
Error	2.16	144	0.02		
Total	170.76	215			

*SC: suma de los cuadrados

*gl: grados de libertad

*CM: cuadro medio

*C: coeficiente

*p-valor: <0.0001

10.4. Análisis de varianza de polifenoles

Polifenoles (mg AG/100ml)					
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	6.89	23	0.3	643	<0,0001
Trat	6.53	11	0.59	1274.14	<0,0001
Vida util	0.05	1	0.05	113.43	<0,0001
Trat*Vida util	0.31	11	0.03	60	<0,0001
Error	0.02	48	4.70E-04		
Total	6.92	71			

*SC: suma de los cuadrados

*gl: grados de libertad

*CM: cuadro medio

*C: coeficiente

*p-valor: <0.0001

10.5. Análisis de varianza de flavonoides

Flavonoides (mg Quercetina/100ml)					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
Flavonoides	72	1	0.99	4.39	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	596.46	23	25.93	577.39	<0,0001
Trat	346.68	11	31.52	701.69	<0,0001
Vida util	165.37	1	165.37	3681.92	<0,0001
Trat*Vida util	84.42	11	7.67	170.86	<0,0001
Error	2.16	48	0.04		
Total	598.62	71			

*SC: suma de los cuadrados

*gl: grados de libertad

*CM: cuadro medio

*C: coeficiente

*p-valor: <0.0001

10.6. Análisis de varianza de Capacidad antioxidante

Cap. Antiox (uM Trolox Eq /100ml)					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
Cap. Antiox	72	1	1	4.79	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	622182.09	23	27051.4	1054.29	<0,0001
Trat	251241.05	11	22840.1	890.16	<0,0001
Vida util	177026.88	1	177026.88	6899.38	<0,0001
Trat*Vida util	193914.16	11	17628.56	687.05	<0,0001
Error	1231.6	48	25.66		
Total	623413.69	71			

*SC: suma de los cuadrados

*gl: grados de libertad

*CM: cuadro medio

*C: coeficiente

*p-valor: <0.0001

10.7. Análisis de varianza para las variables pH, acidez y brix, polifenoles, flavonoides y cap. antioxidante.

Variables	Factores	P – valor	Decisión
pH	Tratamiento	<0.0001	**
	Tiempo	<0.0001	**
	Tratamiento *tiempo	<0.0001	**
Acidez	Tratamiento	<0.0001	**
	Tiempo	<0.0001	**
	Tratamiento *tiempo	<0.0001	**
Brix	Tratamiento	<0.0001	**
	Tiempo	<0.0001	**
	Tratamiento *tiempo	0,0005	**
Polifenoles	Tratamiento	<0.0001	**
	Tiempo	<0.0001	**
	Tratamiento *tiempo	<0.0001	**
Flavonoides	Tratamiento	<0.0001	**
	Tiempo	<0.0001	**
	Tratamiento *tiempo	<0.0001	**
Capacidad Antioxidante	Tratamiento	<0.0001	**
	Tiempo	<0.0001	**
	Tratamiento *tiempo	<0.0001	**

*p-valor

*Horas <0,0001

*Tratamientos <0,0001

*Tratamiento vs tratamientos <0,0001

10.8. Fotografías

<p>Obtención de la materia prima</p> 	<p>Pesado de la jamaica</p> 
<p>Pesado del scoby</p> 	<p>Pesado del azúcar</p> 
<p>Secado de la flor de jamaica</p> 	<p>Filtrado de los extractos</p> 
<p>Seteo de la incubadora</p> 	<p>Fermentación de los tratamientos</p> 

Filtrado al final de la fermentacion



Adicion de la maltodextrina



Congelamiento de los tratamientos



Liofilizacion de los tratamientos



Preparacion de las muestras para medir CFT



Medicion de polifenoles



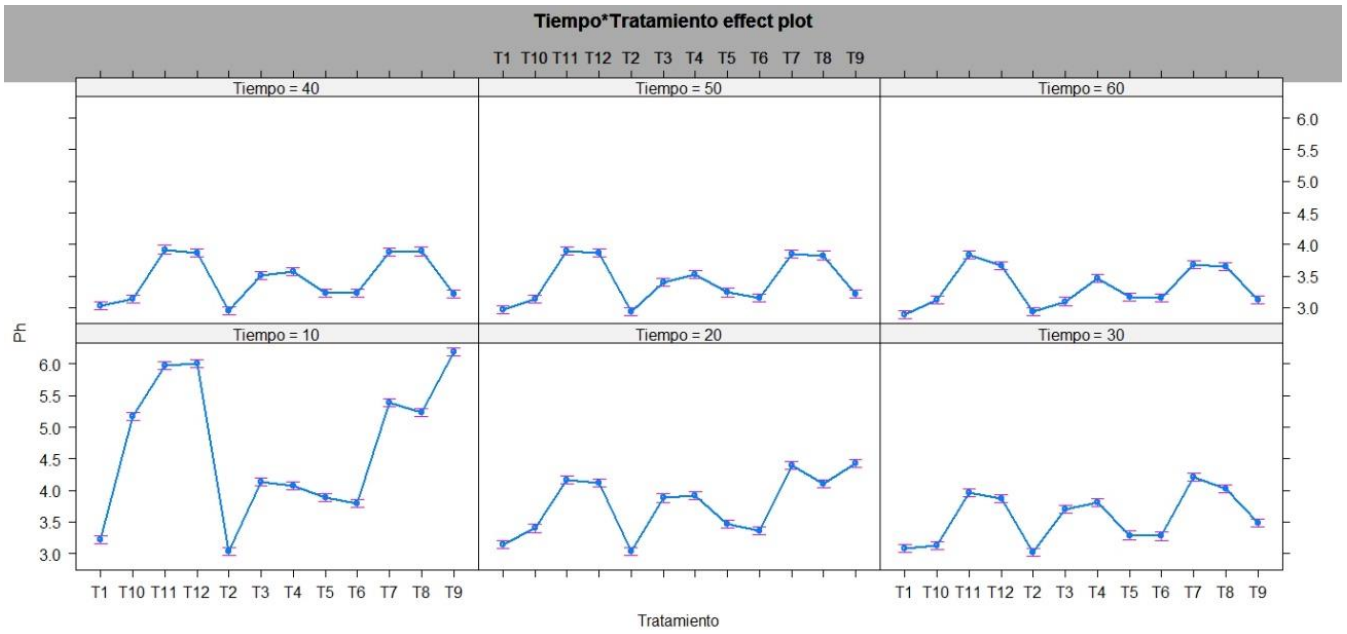
Liofilizado



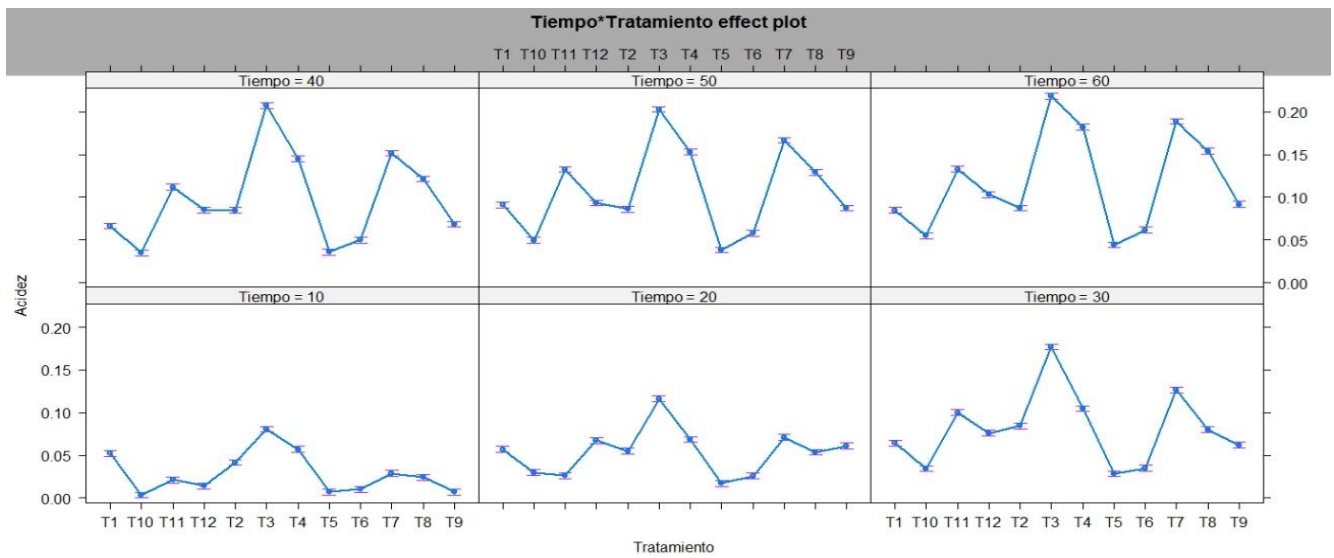
Microbiologia probiotica al mejor tratamiento



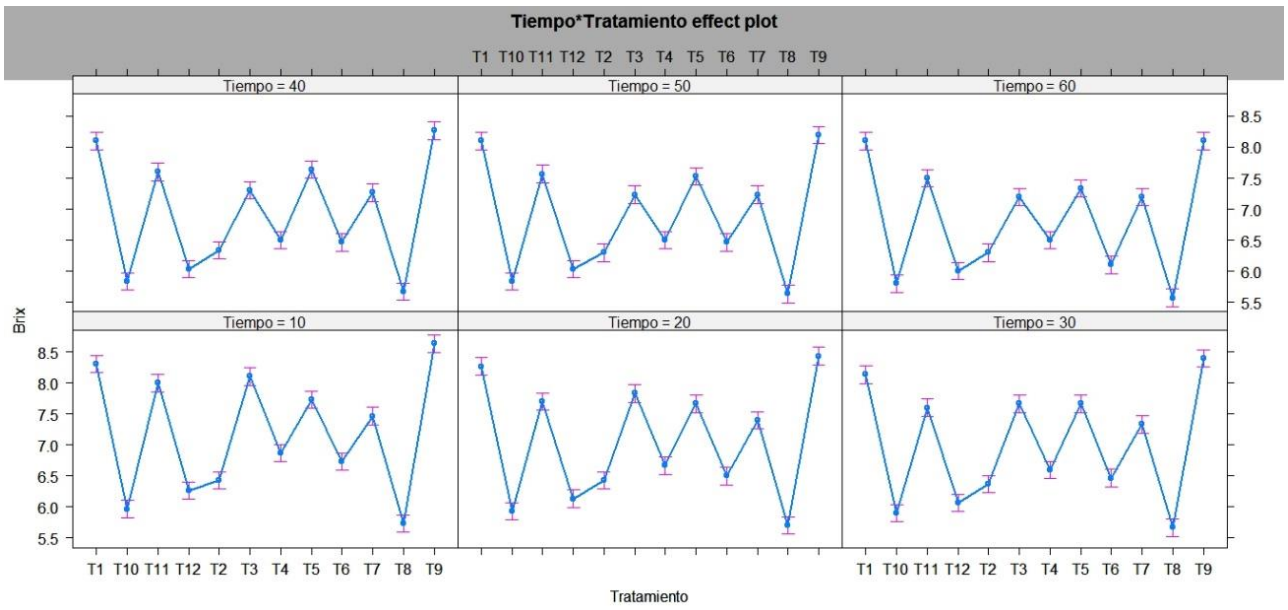
10.9. Grafica 1 Interacción pH



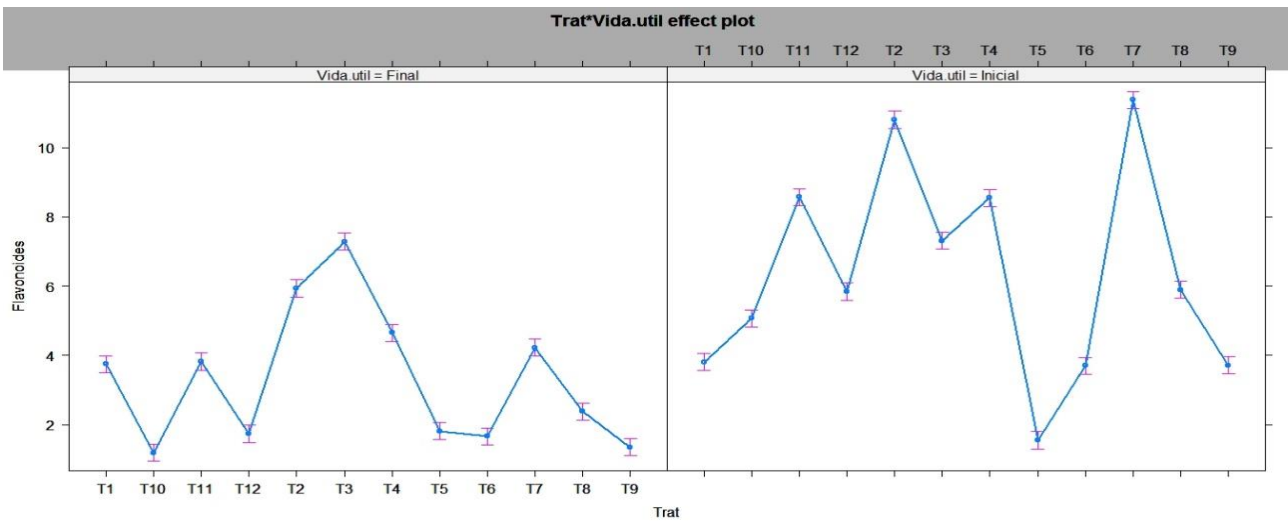
10.10. Grafica 2 Interacción de acidez



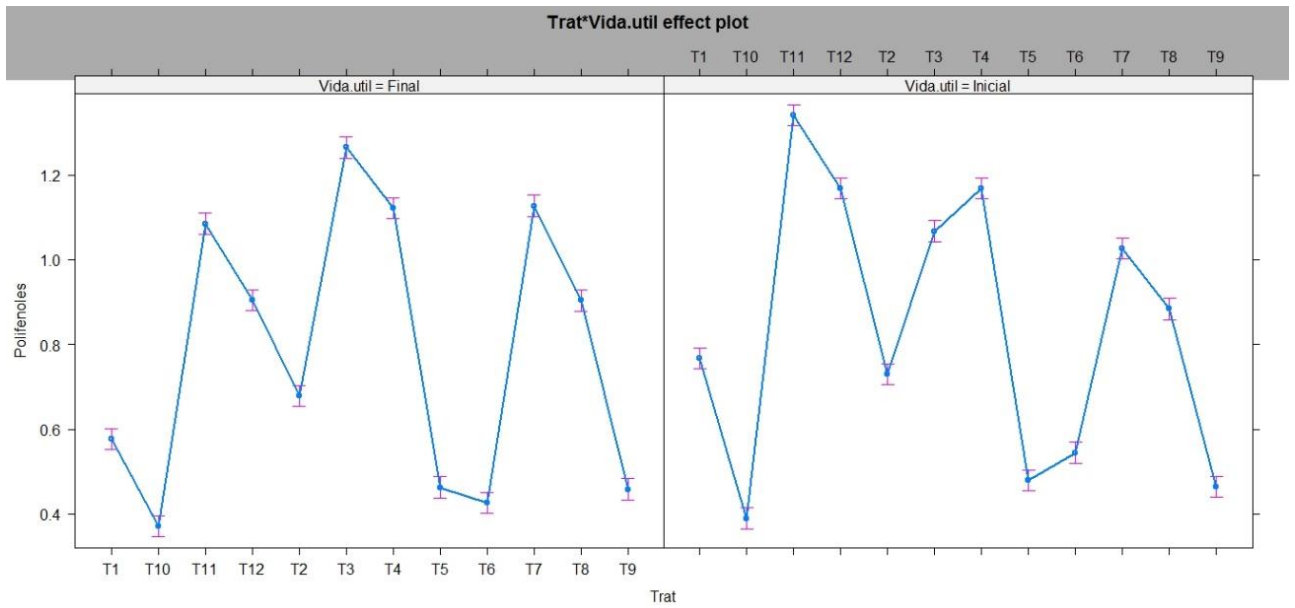
10.11. Grafica 3 Interacción de Brix



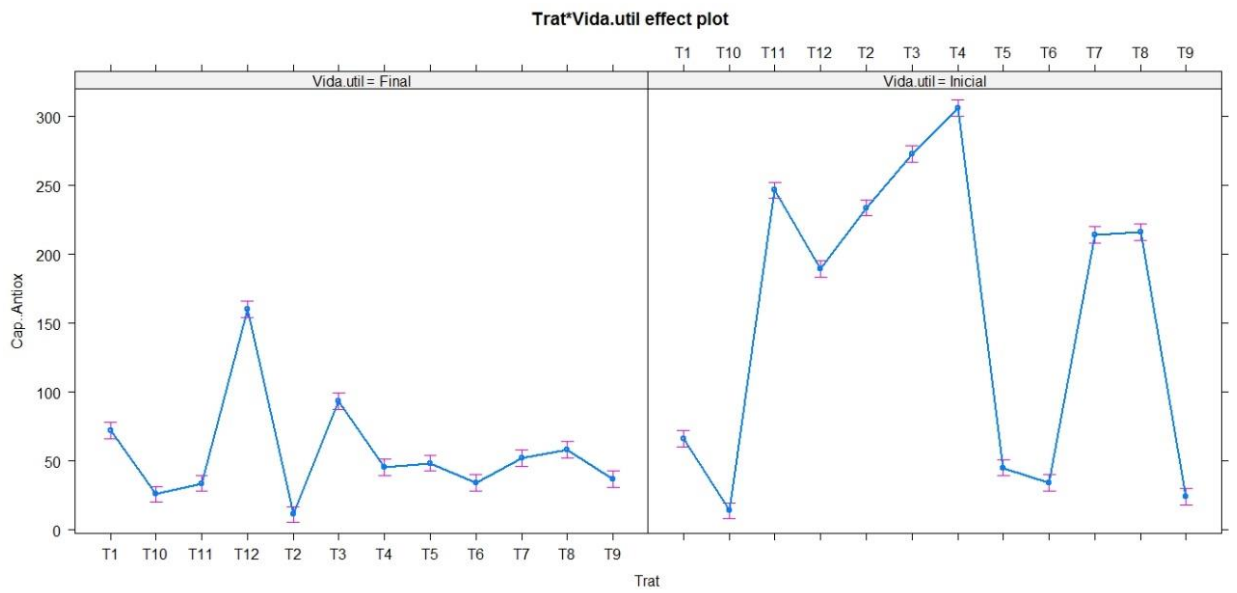
10.12. Grafica 4 Interacción de flavonoides



10.13. Grafica 5 Interacción de polifenoles



10.14. Grafica 6 Interacción de la capacidad antioxidante



10.15. Encuesta sensorial de la bebida fermentada de jamaica

KOMBUCHA DE FLORES DE JAMAICA					
Bebida fermentada y liofilizada de inflorescencias de jamaica					
1) Olor					
Tratamiento	No me gusta nada	No me gusta	Ni me gusta ni me disgusta	Me gusta	Me gusta mucho
T2					
T5					
T11					
2) Color					
Tratamiento	No me gusta nada	No me gusta	Ni me gusta ni me disgusta	Me gusta	Me gusta mucho
T2					
T5					
T5					
3) Sabor					
Tratamiento	No me gusta nada	No me gusta	Ni me gusta ni me disgusta	Me gusta	Me gusta mucho
T2					
T5					
T11					
4) Aroma					
Tratamiento	No me gusta nada	No me gusta	Ni me gusta ni me disgusta	Me gusta	Me gusta mucho
T2					
T5					
T11					

10.16. Formato Revista

TITLE: Lyophilized and Fermented Beverage of Hibiscus Flowers (*Hibiscus sabdariffa* L.)

Jefferson Rogel¹, María Morales-Padilla¹, Elena Villacrés², Byron Herrera³, Diego Moposita-Vásquez³

1 Master's Degree in Agroindustry with a specialization in Food Technology. Technical University of Cotopaxi. Postal Code: 050106. Cotopaxi, Ecuador.

2 National Institute of Agricultural Research, INIAP. Postal Code: 17019 Quito, Ecuador.

3 National University of Chimborazo, Faculty of Engineering, School of Agroindustry, INVAGRO Research Group. Postal Code: 060110, Riobamba, Ecuador.

Corresponding Authors: deividflak@hotmail.com; jefferson.rogel0227@utc.edu.ec.

ABSTRACT

A study was conducted to characterize the inflorescences of hibiscus in concentrations of (0.62 g, 1.25 g, and 2.5 g per 1000 ml of water). The influence of fermentation was analyzed in combination with the Soby consortium (Symbiotic culture of bacteria and yeast), through the evaluation of physicochemical properties, antioxidant compounds, microbiological aspects, colorimetry, proximate analysis, and sensory analysis. The fermentation was carried out for 60 hours, using different standardized methods based on pH, titratable acidity, soluble solids, and antioxidant compounds. After fermentation, the treatments (beverages) were lyophilized at a temperature of -20°C and pressure of -30 mmHg for 5 days, and maltodextrin (5 g/100 ml) was additionally used. The best treatments were determined based on the content of polyphenols, flavonoids, and antioxidant capacity. Microbiological analyses of lactic acid bacteria, proximate analyses, minerals, colorimetry (CIELAB), and finally a sensory analysis were conducted. At the end of the research, it was determined that treatment 11 (0.625g of hibiscus inflorescences with 8% panela) showed a content of lactic acid bacteria of 4.2×10^3 CFU, polyphenols of 1.13 mg GAE/100 ml, flavonoids of 7.29 mg of quercetin/100 ml, antioxidant capacity of 93.63 µg of Trolox equivalent/100 ml, 0.21% protein, 0.80% ash, 6.06% moisture, and 9.38 ppm in iron content, which was selected as the best treatment due to these results.

Keywords: bioactive compounds, characterization, fermentation, hibiscus, lyophilization

INTRODUCTION

One of the challenges for the agri-food industry is to find new sources of raw materials to engage in the production of fermented beverages and other food products. Consequently, a wide range of fermented products has been developed to meet the new requirements of consumers. The constant growth of the market forces

producers to innovate, necessitating research into alternative non-traditional beverages, such as those made from hibiscus flowers(Viteri Borja, J.G. et al., 2022).

Kombucha is a healthy, refreshing fermented beverage that originated in China. It has gained popularity due to its medicinal properties as an antibacterial, antioxidant, anticarcinogenic, antidiabetic, and for the treatment of peptic ulcers and high cholesterol(Coelho et al., 2020). Kombucha is prepared by steeping black tea leaves in hot water with a sweetener (sucrose), to which a mother culture consisting of a symbiosis of bacteria (*Lactobacillus* and *Lactococcus*) and yeasts (*Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces ludwigii*, *Kloeckera apiculata*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces bailii*, *Torulaspora delbrueckii*, and *Brettanomyces bruxellensis*) is added. The bacteria and yeasts generate cellulose and form a fibrous part. The result is a refreshing drink with various metabolites such as bacteriocin, ethanol, organic acids, vitamins, probiotics, sugars, polyphenols, antioxidants, and amino acids(Freitas et al., 2022).

The fermentation of kombucha results from the interaction of three components: alcoholic, lactic, and acetic fermentation. For the bacterial and fungal consortium to reproduce, a specific amount of sugar is essential, and the use of black tea leaves is advised to accelerate the process(Ricaurte, Heredia, 2020). The fermentative process highlights a critical control point(Apaza, Mamani & Choque, Mamani, 2018), as it depends on the amount and type of sugar used. This symbiosis feeds on the sugars in the sweetened tea, resulting in the production of organic acids, amino acids, antibiotic substances, vitamins, and various bioactive compounds beneficial to human health, many of which have not yet been fully identified(Guzman Ortiz, 2021). The presence of antioxidant compounds in kombucha, such as flavonoids, phytosterols, and polyphenols, provides significant health benefits. These functional compounds are used not only in the food industry but also in the health sector(Chakravorty et al., 2016).

However, although lactic acid bacteria (LAB) play an important role in the probiotic properties of kombucha, this group of bacteria is not necessarily present in all microbial strains of this beverage(Vargas et al., 2021). The hibiscus flower or cardo (*Hibiscus sabdariffa* L.) can be the main ingredient for developing such beverages. Hibiscus is a plant from the Malvaceae family, *Hibiscus* genus, and *sabdariffa* L. species, producing white, yellowish, or pink flowers. It has a calyx that, depending on the variety and maturity stage, can be brown, red, or purple(Montaña Arango, Oscar. et al., 2023). It is a plant native to the Indian region and spread to Malaysia, where it is appreciated for its calyces(Rosado Coraizaca, K., 2020), used to prepare tea, wine, coloring sausages, jellies, syrups, candies, jams, preserves, desserts, cakes, sauces, among others(Hidalgo, Villatoro et al., 2009). Hibiscus flowers contain chemical substances including phytochemicals (anthocyanins, carotenes, xenonin), nutrients, vitamins, minerals, carbohydrates, proteins, fats, ashes, organic acids (citric acid, ascorbic acid, maleic acid, hibiscus acid, oxalic acid, tartaric acid), flavonoids, mainly anthocyanins (delphinidin-3-glucoside, sambubioside, anthocyanin-3-sambubioside), phytosterols, polyphenols, water-soluble(Ezzat et al., 2016) antioxidants, polysaccharides (mucilages), saponins, pectin(Izquierdo, Vega et al., 2020), alkaloids, ascorbic acid, beta-carotene, vitamins B1, B2, C, D,

and E(Castañeda & Cáceres, 2014), all of which have beneficial health effects(Riaz & Chopra, 2018).

Lyophilization has proven its utility in various applications, especially for heat-sensitive or unstable products in aqueous solutions over prolonged periods(Rodríguez et al., 2023). This method involves inhibiting cellular metabolism through three consecutive stages. The first phase involves freezing the sample; in the second phase, the formed ice is removed as vapor in a process known as sublimation, which occurs only when the temperature and partial pressure of water vapor are below the triple point of water. Finally, a drying stage is performed to eliminate excess water not evaporated in the previous step(Assegehegn et al., 2019) .

Different foods are classified as energetic and functional foods, such as cream sweetened with honey(Salamanca G et al., 2010), aloe vera juice as a natural nutritional supplement enriched with essential nutrients for the body(Silva et al., 2013), among other products available in the market.

The research aimed to create a lyophilized, fermented beverage with hibiscus inflorescences to evaluate the fermentative process and study the bioactive compounds, conduct physicochemical, mineral, microbiological analyses, and a sensory analysis of the final product. The content of polyphenols, flavonoids, and antioxidant capacity was determined at the beginning and end of fermentation to understand the impact of the Scoby (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast) consortium on the fermentation with hibiscus inflorescences.

MATERIALS AND METHODS

The project was carried out through a joint effort between the Technical University of Cotopaxi (UTC) and the National Institute of Agricultural Research (INIAP) in the Department of Nutrition and Quality, where physical-chemical parameters, antioxidant compounds, microbiological aspects, proximate analysis, colorimetric and sensory analyses were measured. Additionally, the research was experimental in nature due to the manipulation of variables under different conditions.

Acquisition of Hibiscus Aqueous Inflorescences

The process began with the purchase of fresh hibiscus flowers from the general market of the Machachi canton, ensuring they met quality characteristics such as moisture (80-90%); whole calyces, free of fungi, and with a dark red color as per the NMX-FF-115-SCFI-2010. The inflorescences were washed with distilled water at room temperature; then, they were dehydrated using a Dakota DKD equipment at 60 °C for 6 hours until reaching a moisture content of less than 7%, as established by the NTE INEN 2392. One liter of water was heated to 90 °C and placed in transparent glass jars, to which dehydrated hibiscus inflorescences were added in concentrations of 2.5 (I1); 1.25 (I2), and 0.625 (I3). The aqueous hibiscus inflorescences were analyzed based on their physical-chemical properties.

Preparation of the Scoby Consortium

For the preparation of the Scoby consortium, 1 liter of purified water was heated to 90 °C, to which 3 g of black tea and 60 g of sugar (sucrose) were added. It was

cooled to 40 °C and filtered. Subsequently, 200 ml of kombucha was added, the fluid was placed in a transparent glass container and fermented for 21 days at an average temperature of 30 °C (David Barroeta Bonilla et al., 2019).

Procedure for the Preparation of the Fermented and Lyophilized Beverage of Hibiscus Inflorescences

Once the aqueous hibiscus inflorescences were obtained, sugar and cane sugar panela were added in concentrations of 6% (60g/L) and 8% (80g/L). Subsequently, 23 g of Scoby consortium (previously fermented for 21 days) was added, aiming to perform aerobic fermentation, using an incubator set to a temperature of 25 °C for 60 hours. Sampling was conducted every 10 hours, and physical-chemical parameters were measured throughout the fermentation process. Additionally, antioxidant compounds were evaluated at the beginning and end of fermentation, to determine the concentration of bioactive compounds present in the fermented hibiscus inflorescences beverage (Alfonso-Acosta et al., 2019). After fermentation, the mixture was filtered using a Whatman 90 mm filter paper, maltodextrin 5 g/100 ml was added, stirred until completely dissolved, frozen at -50 °C for 5 days. The frozen samples were lyophilized in a LABCONCO Freeze Dry System, at a temperature of -20°C and pressure of -30 mmHg for 5 days. The dry samples were weighed and ground, packaged in zipper plastic bags, and stored at a temperature of 4 °C.

Physical-Chemical Analysis

The pH was determined using a WTW INOLAB potentiometer according to the NMX-F-317-S-1978 standard. Titratable acidity was measured based on acetic acid content according to NTE INEN 103. Soluble solids were measured with a MILWAUKEE MA884 digital refractometer according to the procedure established by NMX-F-103-1982.

Antioxidant Compounds Analysis

The evaluation of total polyphenols was carried out using the method described by Waterhouse AL (Waterhouse, 2002). Flavonoids were quantified using the method described by Quettier-Deleu (Quettier-Deleu et al., 2000), and the antioxidant capacity was evaluated using the ABTS method described by Murcia KS (Murcia & Castañeda, 2022).

Microbiological Analysis

Microbiological counts of LAB were performed according to the PEEMi/LA/40 Petrifilm PTM 041701 method.

Proximate Analysis

Proximate analyses considered parameters evaluated by AOAC methods. Moisture was determined using the gravimetric method by the weight difference of the compounds (AOAC 964.22). Ashes were determined by dry incineration (AOAC 945.38). Crude protein was carried out using the Kjeldahl method (AOAC,

2001.11-2002) and crude fiber was determined by an acid digestion (AOAC 926.09).

Color Index of the Lyophilized Products

The color determination was carried out with 25 g of each lyophilized sample to determine the L*, a*, and b* coordinates using a PCE-CSM 2 equipment on the CIELAB scale, the final value was obtained from the average of three measurements in a chamber isolated from natural light. Color measurement was performed using colorimetry applying the CIElab method (AOAC, 985.25).

Sensory Analysis

The beverages were subjected to sensory evaluation using a non-structured 5-point hedonic scale to evaluate attributes such as odor, color, flavor, and aroma. A panel of semi-trained tasters aged between 20 and 45 years was employed (Julia Espinosa-Manfugás ;, s. f.).

Statistical Analysis

A multivariable ANOVA was conducted, and Tukey's test was applied with a 95% significance level to identify differences between samples, using Infostat 2.0 and R commander software. Each analysis was carried out through triplicate measurements and the results were reported as averages and standard deviations. As a result of the combinations between variables, 12 treatments were obtained.

RESULTS

Characterization of the Aqueous Hibiscus Inflorescences

The results in Table 1 show statistical variability among the aqueous hibiscus inflorescences. Regarding pH, a lower value is observed in “I1” (2.5 g inflorescences/1L), due to a higher concentration of inflorescences compared to I2 and I3 (Chicaiza G. & Flores G., 2016). Density did not show any statistically significant difference, indicating that the concentrations of the hibiscus inflorescences did not influence this variable. The titratable acidity is influenced by the pH of each inflorescence; in I1, the acidity is slightly higher than in I2 and I3, which is attributed to the difference in inflorescence concentration (Esparza-Aguilar, 2020).

The polyphenols, flavonoids, and antioxidant capacity showed that the higher the concentration of inflorescences, the higher the content of antioxidant compounds, which is due to the attribute's characteristic of the hibiscus flower (Cabrera Carranza, 2022).

Table 1. Physical-Chemical Parameters and Antioxidant Compounds of the Hibiscus Inflorescences

Variables	Treatments		
	I ₁	I ₂	I ₃
pH	2.97± 0.02 ^a	3.38± 0.02 ^b	4.27± 0.02 ^c
Density (g/ml)	1.0± 0.02 ^a	1.01± 0.04 ^{ab}	1.01± 0.01 ^{ab}
Acetic Acid Acidity%	0.03± 0.03 ^b	0.01± 0.02 ^a	0.02± 0.02 ^a
Polyphenols mg GAE/100 ml	0.48±0.002 ^c	0.33±0.001 ^b	0.32±0.00 ^a
Flavonoids mg Quercetin/100 ml	0.46±0.03 ^c	0.18± 0.03 ^b	0.15± 0.02 ^a
Antioxidant Capacity µg Trolox Eq /ml	74.33±0.02 ^c	47.11±0.00 ^b	32.33±0.21 ^a

Inflorescence 1 (I1): 2.5 g of hibiscus flowers / 1000 ml of water

Inflorescence 2 (I2): 1.25 g of hibiscus flowers / 1000 ml of water

Inflorescence 3 (I3): 0.625 g of hibiscus flowers / 1000 ml of water

Mean \pm standard deviation

Bioactive compounds are directly responsible for health benefits, as they are processed, absorbed, and metabolized by the body, which broadens their potential versatility as possible therapeutic approaches (Lobo et al., 2017).

Comparison of Mean Values of pH, Acidity, Brix, Polyphenols, Flavonoids, and Antioxidant Capacity in the Beverages

The statistical analysis conducted among the treatments and fermentation time identified significant differences at the statistical level. For each analysis, samples were taken at 10-hour intervals. It can be highlighted that the most important variables within the study were the antioxidant compounds. Sucrose plays a fundamental role in the metabolic process of fermentation with the Scoby consortium. These components serve as a source of energy, minerals, and nitrogen for the culture, and are transferred to the liquid of the hibiscus inflorescences. Consumers who suffer from diabetes often opt to prolong the fermentation time of kombucha, in order to minimize the sugar content, resulting in the presence of fructose as residual sugar (Lobo et al., 2017).

Table 2. Physicochemical Characteristics at 60 Hours of Fermentation

Treatments	pH	Titrateable Acidity	°Brix
T ₁	3,06 \pm 0.01 ^b	0,07 \pm 7.00 ^{E-04e}	8.17 \pm 0.003 ^h
T ₂	2.99 \pm 0.01 ^a	0,07 \pm 7.00 ^{E-04f}	6.36 \pm 0.003 ^d
T ₃	2,99 \pm 0.01 ^e	0,17 \pm 7.00 ^{E-04k}	7.56 \pm 0.003 ^g
T ₄	3,62 \pm 0.01 ^f	0,12 \pm 7.00 ^{E-04i}	6.61 \pm 0.003 ^e
T ₅	3,38 \pm 0.01 ^c	0,03 \pm 7.00 ^{E-04a}	7.59 \pm 0.003 ^g
T ₆	3,33 \pm 0.01 ^c	0,04 \pm 7.00 ^{E-04c}	6.46 \pm 0.003 ^d
T ₇	4,24 \pm 0.01 ^{ij}	0,12 \pm 7.00 ^{E-04j}	7.32 \pm 0.003 ^f
T ₈	4,12 \pm 0.01 ^h	0,09 \pm 7.00 ^{E-04h}	5.66 \pm 0.003 ^a
T ₉	3,94 \pm 0.01 ^g	0,06 \pm 7.00 ^{E-04d}	8.34 \pm 0.003 ⁱ
T ₁₀	3,52 \pm 0.01 ^d	0,03 \pm 7.00 ^{E-04b}	5.88 \pm 0.003 ^b
T ₁₁	4,29 \pm 0.01 ^j	0,09 \pm 7.00 ^{E-04g}	7.66 \pm 0.003 ^g
T ₁₂	4,23 \pm 0.01 ⁱ	0,07 \pm 7.00 ^{E-04f}	6.09 \pm 0.003 ^c

Results are expressed as the mean \pm standard error. Values in the same column are indicated with superscripts denoting groups whose values show statistically significant differences ($p < 0.05$).

Table 3. Initial and Final Characteristics of Antioxidant Compounds

Treatments	Polyphenols		Flavonoids		Antioxidant Capacity	
	Initial	Final	Initial	Final	Initial	Final
T ₁	0.77 \pm 0.01 ^f	0.58 \pm 0.01 ^d	3.81 \pm 0.12 ^c	3.75 \pm 0.12 ^c	66.3 \pm 2.92 ^{f-g}	11.28 \pm 2.92 ^g
T ₂	0.73 \pm 0.01 ^{e-f}	1.27 \pm 0.01 ^e	10.8 \pm 0.12 ^j	5.93 \pm 0.12 ^f	233.82 \pm 2.92 ^l	72.43 \pm 2.92 ^a
T ₃	1.07 \pm 0.01 ^{h-i}	0.68 \pm 0.01 ^k	7.3 \pm 0.12 ^g	3.82 \pm 0.12 ^g	273.04 \pm 2.92 ^m	33.82 \pm 2.92 ^h
T ₄	1.17 \pm 0.01 ^j	0.46 \pm 0.01 ^{i-j}	8.55 \pm 0.12 ^h	1.81 \pm 0.12 ^{d-e}	306.37 \pm 2.92 ⁿ	45.59 \pm 2.92 ^{e-e}
T ₅	0.48 \pm 0.01 ^{b-c}	1.12 \pm 0.01 ^b	1.55 \pm 0.12 ^a	4.65 \pm 0.12 ^{a-b}	45.22 \pm 2.92 ^{c-e}	48.51 \pm 2.92 ^{c-e}
T ₆	0.54 \pm 0.01 ^{c-d}	0.43 \pm 0.01 ^{a-b}	3.7 \pm 0.12 ^c	1.66 \pm 0.12 ^a	34.24 \pm 2.92 ^{b-c}	34.29 \pm 2.92 ^{b-c}
T ₇	1.03 \pm 0.01 ^h	1.08 \pm 0.01 ^{i-j}	11.37 \pm 0.12 ⁱ	4.23 \pm 0.12 ^{c-d}	214.22 \pm 2.92 ^k	52.45 \pm 2.92 ^{d-f}
T ₈	0.88 \pm 0.01 ^g	0.9 \pm 0.01 ^g	5.89 \pm 0.12 ^f	2.38 \pm 0.12 ^b	216.18 \pm 2.92 ^k	58.33 \pm 2.92 ^{e-g}
T ₉	0.46 \pm 0.01 ^b	0.46 \pm 0.01 ^b	3.71 \pm 0.12 ^c	1.35 \pm 0.12 ^a	24.09 \pm 2.92 ^{a-b}	37.08 \pm 2.92 ^{b-d}
T ₁₀	0.39 \pm 0.01 ^a	0.37 \pm 0.01 ^a	5.07 \pm 0.12 ^{c-d}	1.19 \pm 0.12 ^a	14 \pm 2.92 ^a	26.01 \pm 2.92 ^{a-b}
T ₁₁	1.34 \pm 0.01 ^l	1.13 \pm 0.01 ^{i-j}	8.57 \pm 0.12 ^h	7.29 \pm 0.12 ^c	246.57 \pm 2.92 ^l	93.63 \pm 2.92 ^{b-c}
T ₁₂	1.17 \pm 0.01 ^j	0.91 \pm 0.01 ^g	5.84 \pm 0.12 ^f	1.74 \pm 0.12 ^{a-b}	189.71 \pm 2.92 ^j	160.29 \pm 2.92 ^j

Results are expressed as the mean \pm standard deviation. Values in the same column are indicated with superscripts a-l that denote the groups whose values show statistically significant differences ($p < 0.05$).

Table 4. Behavior of Physicochemical Parameters During 60 Hours of Fermentation

pH												
Tiempo (min)	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇	T ₈	T ₉	T ₁₀	T ₁₁	T ₁₂
10	3.22 \pm 0.03 ^d	3.03 \pm 0.03 ^a	4.13 \pm 0.04 ^c	4.07 \pm 0.05 ^c	3.89 \pm 0.04 ^c	3.80 \pm 0.02 ^d	5.39 \pm 0.02 ^c	5.23 \pm 0.01 ^c	6.19 \pm 0.03 ^d	5.17 \pm 0.04 ^c	5.97 \pm 0.03 ^c	6.01 \pm 0.02 ^d
20	3.15 \pm 0.03 ^c	3.04 \pm 0.03 ^a	3.88 \pm 0.04 ^d	3.92 \pm 0.05 ^b	3.47 \pm 0.04 ^b	3.36 \pm 0.02 ^c	4.40 \pm 0.02 ^d	4.10 \pm 0.01 ^d	4.43 \pm 0.03 ^c	3.40 \pm 0.04 ^b	4.17 \pm 0.03 ^b	4.12 \pm 0.02 ^c
30	3.09 \pm 0.03 ^b	3.03 \pm 0.03 ^a	3.71 \pm 0.04 ^c	3.81 \pm 0.05 ^b	3.29 \pm 0.04 ^a	3.28 \pm 0.02 ^b	4.21 \pm 0.02 ^c	4.03 \pm 0.01 ^c	3.48 \pm 0.03 ^b	3.13 \pm 0.04 ^a	3.96 \pm 0.03 ^a	3.87 \pm 0.02 ^b
40	3.03 \pm 0.03 ^b	2.96 \pm 0.03 ^a	3.52 \pm 0.04 ^b	3.57 \pm 0.05 ^a	3.24 \pm 0.04 ^a	3.23 \pm 0.02 ^a	3.88 \pm 0.02 ^b	3.89 \pm 0.01 ^b	3.21 \pm 0.03 ^a	3.14 \pm 0.04 ^a	3.92 \pm 0.03 ^a	3.87 \pm 0.02 ^b
50	2.97 \pm 0.03 ^a	2.93 \pm 0.03 ^a	3.40 \pm 0.04 ^b	3.52 \pm 0.05 ^a	3.24 \pm 0.04 ^a	3.15 \pm 0.02 ^a	3.85 \pm 0.02 ^b	3.83 \pm 0.01 ^b	3.22 \pm 0.03 ^a	3.14 \pm 0.04 ^a	3.90 \pm 0.03 ^a	3.86 \pm 0.02 ^b
60	2.89 \pm 0.03 ^a	2.93 \pm 0.03 ^a	3.10 \pm 0.04 ^a	3.46 \pm 0.05 ^a	3.17 \pm 0.04 ^a	3.15 \pm 0.02 ^a	3.68 \pm 0.02 ^a	3.65 \pm 0.01 ^a	3.13 \pm 0.03 ^a	3.13 \pm 0.04 ^a	3.84 \pm 0.03 ^a	3.67 \pm 0.02 ^a

Titratable Acidity												
Time (min)	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇	T ₈	T ₉	T ₁₀	T ₁₁	T ₁₂
10	0.05 \pm 1.00E-03 ^a	0.04 \pm 1.50E-03 ^a	0.08 \pm 3.30E-03 ^a	0.06 \pm 2.60E-03 ^a	0.01 \pm 7.50E-04 ^a	0.01 \pm 9.30E-04 ^a	0.03 \pm 2.30E-03 ^a	0.02 \pm 7.60E-04 ^a	0.01 \pm 9.60E-04 ^a	3.50E-03 \pm 1.40E-03 ^a	0.02 \pm 9.20E-04 ^a	0.01 \pm 1.70E-03 ^a
20	0.06 \pm 1.00E-03 ^a	0.06 \pm 1.50E-03 ^b	0.12 \pm 3.30E-03 ^b	0.07 \pm 2.60E-03 ^a	0.02 \pm 7.50E-04 ^b	0.03 \pm 9.30E-04 ^b	0.07 \pm 2.30E-03 ^b	0.05 \pm 7.60E-04 ^b	0.06 \pm 9.60E-04 ^b	0.03 \pm 1.40E-03 ^b	0.03 \pm 9.20E-04 ^b	0.07 \pm 1.70E-03 ^b
30	0.06 \pm 1.00E-03 ^b	0.08 \pm 1.50E-03 ^c	0.18 \pm 3.30E-03 ^c	0.1 \pm 2.60E-03 ^b	0.03 \pm 7.50E-04 ^c	0.04 \pm 9.30E-04 ^c	0.13 \pm 2.30E-03 ^c	0.08 \pm 7.60E-04 ^c	0.06 \pm 9.60E-04 ^b	0.03 \pm 1.40E-03 ^b	0.1 \pm 9.20E-04 ^c	0.08 \pm 1.70E-03 ^c
40	0.07 \pm 1.00E-03 ^b	0.08 \pm 1.50E-03 ^c	0.2 \pm 3.30E-03 ^d	0.15 \pm 2.60E-03 ^c	0.04 \pm 7.50E-04 ^d	0.05 \pm 9.30E-04 ^d	0.15 \pm 2.30E-03 ^d	0.12 \pm 7.60E-04 ^d	0.07 \pm 9.60E-04 ^c	0.04 \pm 1.40E-03 ^b	0.11 \pm 9.20E-04 ^d	0.09 \pm 1.70E-03 ^d
50	0.08 \pm 1.00E-03 ^c	0.09 \pm 1.50E-03 ^c	0.21 \pm 3.30E-03 ^{d-e}	0.15 \pm 2.60E-03 ^c	0.04 \pm 7.50E-04 ^d	0.06 \pm 9.30E-04 ^c	0.17 \pm 2.30E-03 ^c	0.13 \pm 7.60E-04 ^c	0.09 \pm 9.60E-04 ^d	0.05 \pm 1.40E-03 ^c	0.13 \pm 9.20E-04 ^c	0.09 \pm 1.70E-03 ^c
60	0.09 \pm 1.00E-03 ^d	0.09 \pm 1.50E-03 ^c	0.22 \pm 3.30E-03 ^c	0.18 \pm 2.60E-03 ^d	0.04 \pm 7.50E-04 ^c	0.06 \pm 9.30E-04 ^c	0.19 \pm 2.30E-03 ^f	0.15 \pm 7.60E-04 ^f	0.09 \pm 9.60E-04 ^d	0.05 \pm 1.40E-03 ^c	0.13 \pm 9.20E-04 ^c	0.1 \pm 1.70E-03 ^f

Brix												
Time (min)	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇	T ₈	T ₉	T ₁₀	T ₁₁	T ₁₂
10	8.31 \pm 0.04 ^b	6.43 \pm 0.05 ^a	8.11 \pm 0.15 ^b	6.87 \pm 0.1 ^a	7.73 \pm 0.12 ^a	6.73 \pm 0.04 ^c	7.47 \pm 0.03 ^d	5.73 \pm 0.03 ^b	8.63 \pm 0.05 ^c	5.97 \pm 0.04 ^a	8.00 \pm 0.03 ^c	6.27 \pm 0.03 ^b
20	8.27 \pm 0.04 ^a	6.43 \pm 0.05 ^a	7.83 \pm 0.15 ^a	6.67 \pm 0.1 ^a	7.67 \pm 0.12 ^a	6.50 \pm 0.04 ^b	7.40 \pm 0.03 ^c	5.70 \pm 0.03 ^a	8.43 \pm 0.05 ^b	5.93 \pm 0.04 ^a	7.70 \pm 0.03 ^b	6.13 \pm 0.03 ^a
30	8.13 \pm 0.04 ^a	6.37 \pm 0.05 ^a	7.67 \pm 0.15 ^a	6.60 \pm 0.1 ^a	7.67 \pm 0.12 ^a	6.47 \pm 0.04 ^b	7.33 \pm 0.03 ^b	5.67 \pm 0.03 ^{a-b}	8.40 \pm 0.05 ^b	5.90 \pm 0.04 ^a	7.60 \pm 0.03 ^a	6.07 \pm 0.03 ^a
40	8.10 \pm 0.04 ^a	6.33 \pm 0.05 ^a	7.30 \pm 0.15 ^a	6.50 \pm 0.1 ^a	7.63 \pm 0.12 ^a	6.47 \pm 0.04 ^b	7.27 \pm 0.03 ^b	5.67 \pm 0.03 ^{a-b}	8.27 \pm 0.05 ^a	5.83 \pm 0.04 ^a	7.60 \pm 0.03 ^a	6.03 \pm 0.03 ^a
50	8.10 \pm 0.04 ^a	6.30 \pm 0.05 ^a	7.23 \pm 0.15 ^a	6.50 \pm 0.1 ^a	7.53 \pm 0.12 ^a	6.47 \pm 0.04 ^b	7.23 \pm 0.03 ^b	5.63 \pm 0.03 ^{a-b}	8.20 \pm 0.05 ^a	5.83 \pm 0.04 ^a	7.57 \pm 0.03 ^a	6.03 \pm 0.03 ^a
60	8.10 \pm 0.04 ^a	6.30 \pm 0.05 ^a	7.20 \pm 0.15 ^a	6.50 \pm 0.1 ^a	7.33 \pm 0.12 ^a	6.10 \pm 0.04 ^a	7.20 \pm 0.03 ^a	5.57 \pm 0.03 ^a	8.10 \pm 0.05 ^a	5.80 \pm 0.04 ^a	7.50 \pm 0.03 ^a	6.00 \pm 0.03 ^a

*Results expressed as the mean \pm standard deviation. Means in the same column are indicated with superscripts denoting groups whose values show statistically significant differences ($p < 0.05$)

Microbiological Count of Lactic Acid Bacteria

Table 5. Microbiological Analysis of Lactic Acid Bacteria (LAB)"

Treatment	Parameter	Unit	Method	Results	
				Liquid Phase	Lyophilized Phase
T ₂	Count of BAL	UFC/g	PEEMi/LA/40 Petrifilm PTM 041701	<10	<10
T ₅	Count of BAL	UFC/g	PEEMi/LA/40 Petrifilm PTM 041701	<10	<10
T ₁₁	Count of BAL	UFC/g	PEEMi/LA/40 Petrifilm PTM 041701	4.2x10 ³	<10

The probiotic activity in the beverage was due to the presence of lactic acid bacteria (LAB). According to scientific research, they contribute to health improvement thanks to the metabolic products generated by biological activities, which are capable of inducing modifications in the intestinal environment (Mera et al., 2019). The natural resistance of LAB to certain antimicrobial agents enables their survival in the gastrointestinal environment even during antibiotic treatments (Islam et al., 2021). This leads to a reduction in the need to use drugs for treating secondary infections. Moreover, this intrinsic resistance can also decrease the frequency, duration, and/or severity of diarrhea related to antibiotic use (Gómez Rodríguez, 2022). Therefore, Table 5 shows the results of the microbiological count of the three lyophilized treatments. The survival of probiotic microorganisms in the fermented hibiscus inflorescences beverage is limited due to the severity of the lyophilization process; however, inactivated probiotic cells could enhance health benefits and a possible viability of the probiotics (Sarkar, 2018).

Proximate Analysis

Based on the results obtained from the proximate analysis, it can be observed that there is a statistical difference between treatments with respect to each variable studied. This is due to the content of inflorescences and the sugary substrate used in the experiment. In terms of protein, treatment 11 obtained a value of 0.22%. It is important to mention that although fermentation generally increases the availability of proteins, some specific bacterial strains can consume and decrease the amount of certain essential amino acids, which would result in a decrease in the nutritional value of the food (Gómez-Gallego et al., 2020).

Table 6. Proximate Analysis

Variables	Content (%)		
	T ₂	T ₅	T ₁₁
Protein	0.08±0.00 ^b	0.03 ±0.00 ^a	0.22±0.00 ^c
Crude Fiber	0.42±0.02 ^c	0.3±0.00 ^b	0.15±0.02 ^a
Ashes	0.23±0.01 ^b	0.17±0.00 ^a	0.82±0.02 ^c
Moisture	4.88±0.02 ^b	0.34±0.00 ^a	6.05±0.02 ^c

*Results expressed as the mean ± standard error. Means in the same row are indicated with superscripts denoting groups whose values show statistically significant differences (p<0.05).

Mineral Determination

The determination of minerals highlights T11 as one of the best treatments in terms of mineral content, compared to treatments T2 and T5.

Table 7. Determination of Macro and Microelements

Minerals	T ₂	T ₅	T ₁₁
P (%)	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^a	0.03±0.00 ^c
K (%)	0.04±0.00 ^a	0.04±0.00 ^a	0.38±0.00 ^b
Ca (%)	0.05±0.00 ^{ab}	0.04±0.00 ^a	0.05±0.00 ^b
Mg (%)	0.01±0.00 ^a	0.01±0.00 ^a	0.02±0.00 ^b
S (%)	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.02±0.00 ^b
Na (ppm)	0.02±0.00 ^b	0.01±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a
B (ppm)	6.38±0.08 ^c	1.71±0.01 ^b	1.12±0.03 ^a
Zn (ppm)	9.84±0.04 ^c	5.17±0.06 ^b	4.55±0.05 ^a
Cu (ppm)	0.15±0.01 ^b	0.11±0.01 ^a	0.11±0.01 ^a
Fe (ppm)	5.07±0.02 ^b	4.97±0.02 ^a	9.36±0.02 ^c
Mn (ppm)	1.27±0.02 ^b	0.67±0.03 ^a	1.28±0.07 ^b

* Results expressed as the mean ± standard error. Means in the same row are indicated with superscripts denoting groups whose values show statistically significant differences (p<0.05).

Statistical Analysis of Colorimetry

Table 8. Analysis of Variance of Color

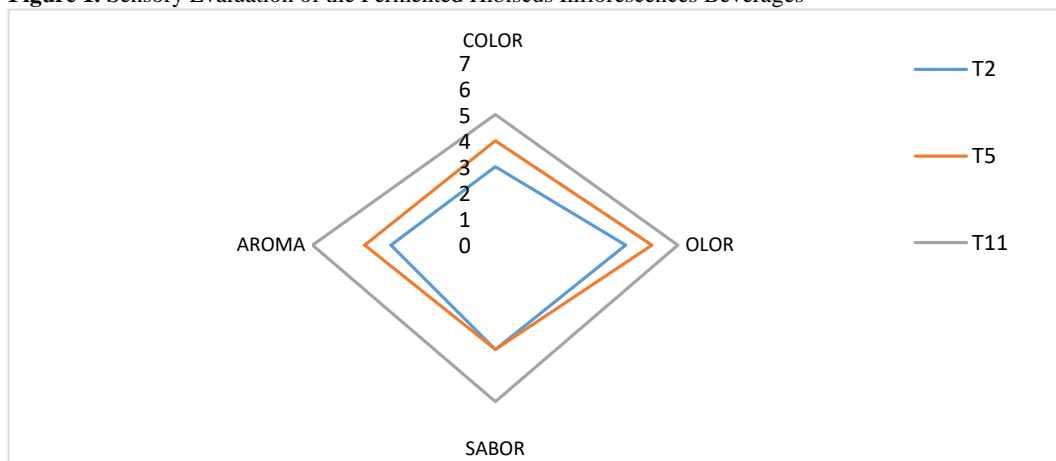
Treatments	L*	C*	H*
Treatment 2	57.57±4.61 ^a	17.85±0.78 ^c	348.91±1.01 ^c
Treatment 5	56.83±4.61 ^a	21.02±0.78 ^b	343.62±1.01 ^b
Treatment 11	47.81±4.61 ^b	27.52±0.78 ^a	34.43±1.01 ^a
p-valué	0.02639	<0,0001	<0,0001

* Results expressed as the mean ± accompanied by the standard deviation. Means in the same row are indicated with superscripts a-c denoting groups whose values show statistically significant differences (p<0.05).

Through statistical analysis, it was identified that luminosity, chroma, and hue in relation to the treatments (T₂; T₅ and T₁₁) had a significant statistical impact. This is due to the fermentative process and the proposed formulation; the increase in color in T₁₁ is due to the presence of sugars such as sucrose and fructose, the main constituents of panela (Martínez et al., 2016).

Sensory Evaluation

The sensory analysis of the three fermented and lyophilized treatments was carried out to determine the one most accepted by the tasters. Figure 1 identifies that T₁₁ is the best based on sensory attributes regarding the variables of color, odor, flavor, and aroma.

Figure 1. Sensory Evaluation of the Fermented Hibiscus Inflorescences Beverages

DISCUSSION

After inoculation (Table 4), the initial pH values in the solutions ranged between 6.2 and 3.0, experiencing a rapid decrease in the first 10 hours, and subsequently remaining within an average range of about 3.8 to 2.7 throughout the fermentation process. This is attributed to the yeasts present in the Scoby consortium consuming the substrate from the experimental treatments. The pH in the fermentation process shows an inverse relationship with time; that is, as time progresses, the pH tends to decrease (Donaires Quispe, 2018). During the 60 hours of fermentation, it is noticeable that treatments sweetened with panela had a higher pH at the beginning of the fermentative cycle; however, those sweetened with refined sugar had a lower pH. The sensitivity of pH means that microbial-origin variations can easily occur. If the pH is higher, it becomes highly prone to microbial alterations. On the other hand, a lower pH is unfavorable for the progression of malolactic fermentation (Abanto & Martin, 2020). Titratable acidity is influenced in relation to pH, as indicated in Table 4, where acidity significantly increases among treatments.

Due to fermentation with the Scoby consortium, different treatments exhibited some variability in acidity, as can be observed. Those sweetened with panela had higher acidity compared to treatments sweetened with refined sugar, and this alteration in acidity originates from the formation of reduced amounts of lactic acid, acetic acid, succinic acid, and galacturonic acid during the fermentation process. This variation can manifest in two modalities: dissociated, when the hydrogen ion separates from the acid and can be measured independently, and non-dissociated, when the acid is simply dissolved. Additionally, during fermentation at a controlled temperature, there is a reduction of tartaric acid, which precipitates in the form of potassium and calcium bitartrate (Abanto & Martin, 2020). Panela, known as whole cane sugar, unlike refined sugar, retains a high content of nutrients, vitamins, and minerals, thanks to its completely natural production process, which prevents the loss of the nutritious components present in this product (Obando, 2010).

After inoculation (Table 4), the initial soluble solids content (°Brix) of the experimental treatments indicates the level incorporated by the sweeteners, initially fluctuating between 8.0 and 5.0, indicating a gradual decrease in total solids. This suggests that the Scoby consortium did not considerably metabolize the sugars, despite evidence of fermentative activity (Duran et al., 2014).

The variations in polyphenol content can be attributed to the action of acetic bacteria and yeasts in an acidic environment during fermentation (Jahidul & Kabir, 2019). The number of polyphenols underwent notable changes within the 12 treatments under study according to the author (Menéndez Cevallos & Burgos Briones, 2021), mentioning that his research showing a decrease of 35% on the third day and 59% on the seventh day of fermentation values comparable to reference. This pattern reflects the inverse relationship between the total polyphenol content and the duration of fermentation. Based on the results obtained, treatments with the best attributes in polyphenol content were selected; furthermore, fermentation is the factor that most influences the variation in total polyphenol levels and antioxidant

capacity(Pallares et al., 2016). Polyphenols and flavonoids constitute significant elements in human nutrition, although not classified as nutrients, and are noted for their strong antioxidant capacity, being common in fruits and vegetables. Given their importance, they play a crucial role in health preservation, making it relevant to incorporate them in the production of products that integrate a balanced diet(Arenas Taipe & Díaz Ayón, 2020). Therefore, based on the results obtained, those treatments that meet the active property criteria were selected as the best treatments, namely T2, T5, and T11.

The resistance capacity of microorganisms is linked to inherent factors, including the taxonomic category they belong to (genus and species)(Carvalho et al., 2004). Other methods, such as spray drying or the use of fluidized beds, are regularly employed to generate microbial cultures. However, problems have been pointed out related to the decrease in viability and efficacy of these cultures. It is important to note that crucial parameters such as the drying temperature, the size of the granules to be dried, and the final moisture content of the dry product must be carefully controlled(Berner & Viernstein, 2006). Therefore, for lyophilization with fermentative bacteria, the ideal approach is to use lyoprotectors, which increase the rate of microbial survival(Rodríguez et al., 2023). Probiotics must have the ability to survive in the intestinal tract and resist gastric juices and bile acids. Characteristics related to the isolation of bacterial strains; genetic stability; the ability to maintain a high cell count, typically around 1×10^6 - 1×10^7 CFU, in a food; resistance to gastrointestinal tract conditions; high capacity for adhesion to the intestinal mucosa; ability to stabilize the intestinal microflora(Vivek et al., 2023). This indicates that in the liquid phase of fermentation of hibiscus inflorescences with the Scoby consortium, treatment 11 contains lactic acid bacteria (4.2×10^3 CFU).

Regarding protein, the results obtained through lyophilization, according to Roa's findings, indicate a content of 0.94%, suggesting that the lyophilized hibiscus inflorescences analyzed in this research exhibit a significantly low percentage of protein compared to the reference provided by the author(Roa Condori & Bolivar Viza, 2020). In relation to protein content, according to the research results, it is observed that crude fiber has low values. It is important to note that crude fiber tends to exhibit considerably lower values compared to total dietary fiber. This phenomenon is due to the more rigorous approach of the method used to calculate crude fiber, which focuses exclusively on material that is not susceptible to decomposition(Morales,Miguel, 2016). The percentages of moisture and ash in the lyophilized products show variations compared to the data obtained by Solari, who managed to reduce moisture to only 8.17% and maintain the ash content at a low 1.39%. These results indicate an improvement in the quality of the lyophilization process, as a significant reduction in moisture content and efficient retention of low ash levels are evidenced(Solari-Godiño et al., 2017).

Regarding macronutrients, treatment T11 exhibited elevated levels of phosphorus, potassium, and calcium, registering concentrations of (0.031, 0.384, and 0.051 mg

%), respectively. As for iron content, a concentration of 9.38 mg/L was observed. According to the guidelines of the Institute of Medicine of the United States, an average adult requires about 8 mg of iron per day to meet daily needs (Obregón La Rosa et al., 2021). The most outstanding selected treatment has a copper content of less than 0.10 mg. Given copper's crucial role as an enzymatic component linked to iron metabolism, a daily intake of approximately 0.7 to 0.9 mg of copper is estimated to be necessary to meet nutritional requirements⁵⁰. Concentrations of sodium (Na), iron (Fe), and magnesium (Mg) showed elevated levels, according to the study carried out by Carvalho Augusto R (de Carvalho Augusto, 2020). Specifically, it was observed that sodium and magnesium values were low, while iron presented high concentrations. It is suggested that variations in weight percentages can be attributed to various factors, such as the strain variant used, the fixation and sample preparation method, as well as the metabolic or physiological state of the sample.

During the fermentative process, in which different amounts of hibiscus inflorescences (0.625 g, 1.25 g, and 2.5 g per 1000 ml of water) were used along with the Scoby consortium, a significant influence (with a p-value <0.05) on the color characteristics (L*, C*, and H*) was observed from the beginning to the end of fermentation. These color characteristics are influenced by the concentration of hibiscus inflorescences and the fermentation time; in addition, the type of sweetener applied, as refined sugar did not contribute color characteristics, however, panela contributes considerably, generating a combination of red and brown colors in the treatments.

From the evaluation of antioxidant capacity, polyphenol and flavonoid levels, as well as physicochemical parameters, treatments designated as T2, T5, and T11 were identified as the most prominent after a fermentation process under uniform conditions. It was observed (see Figure 1) that treatment T11 of the fermented hibiscus beverage obtained high acceptance in terms of color, odor, flavor, and aroma. This treatment stood out as the best in terms of pleasant sensory characteristics, making the beverage an attractive and innovative option for tasters.

CONCLUSIONS

During a 60-hour fermentation period, dry hibiscus inflorescences revealed the presence of antioxidant compounds, such as polyphenols, flavonoids, and antioxidant compounds, in concentrations of 0.625 g, 1.25 g, and 2.5 g per 1000 mL, respectively. The beverage fermented with hibiscus inflorescences experienced a slight decrease in its content of antioxidant compounds due to fermentation with the Scoby consortium. However, the severity of the lyophilization process did not favor the presence of probiotic microorganisms; it is important to highlight that in the liquid phase at the end of fermentation, the presence of lactic acid bacteria in Treatment 11 was evident. Finally, the sensory analysis revealed that tasters showed a preference for the fermented and lyophilized beverage with a concentration of 0.625 g of hibiscus inflorescences sweetened with panela at an 8% proportion (Treatment 11). This study presents a novel and advanced option for a fermented

and lyophilized beverage that combines probiotics and antioxidants using hibiscus flowers.

REFERENCES

Abanto, J. R. R., & Martin, W. E. C. (2020). Evaluación de la fermentación de una bebida alcohólica a partir de aguaymanto (*Physalis peruviana*). *INGnosis*, 6(1), Article 1. <https://doi.org/10.18050/ingnosis.v6i1.2556>

Alfonso-Acosta, Y., Pérez-Rojas, A., Yll-Lavín, M., Alfonso-Acosta, Y., Pérez-Rojas, A., & Yll-Lavín, M. (2019). Diseño de un biorreactor para la producción de inoculo de *Salmonella enteritidis*. *Revista Cubana de Química*, 31(1), 120-136. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S2224-54212019000100120&lng=es&nrm=iso&tlng=en

Apaza, Mamani, V., & Choque, Mamani, R. (2018). *Evaluación de la actividad antioxidante y polifenoles totales de una bebida fermentada a base de betarraga (beta vulgaris L.) de la variedad globe dark* [Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa]. <https://repositorio.unsa.edu.pe/items/49f97c85-ccd1-4816-839d-bd8e423d05de>

Arenas Taípe, T. Y., & Díaz Ayón, I. S. (2020). Capacidad antioxidante del aguaymanto (*Physalis peruviana* L.) en tres presentaciones para el consumo humano. *Repositorio Institucional - UNIFE*. <https://repositorio.unife.edu.pe/repositorio/handle/20.500.11955/725>

Assegehegn, G., Fuente, E. B. la, Franco, J. M., & Gallegos, C. (2019). The Importance of Understanding the Freezing Step and Its Impact on Freeze-Drying Process Performance. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 108(4), 1378-1395. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2018.11.039>

Berner, D., & Viernstein, H. (2006). Effect of protective agents on the viability of *Lactococcus lactis* subjected to freeze-thawing and freeze-drying. *Scientia Pharmaceutica*, 74(3), Article 3. <https://doi.org/10.3797/scipharm.2006.74.137>

Cabrera Carranza, A. A. (2022). *Investigación del valor nutricional y funcional de la flor de jamaica en la elaboración de mermeladas*. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/16169>

Cabrera-Carrión, J. L., Jaramillo-Jaramillo, C., Dután-Torres, F., Cun-Carrión, J., García, P. A., & Rojas de Astudillo, L. (2017). Variación del contenido de alcaloides, fenoles, flavonoides y taninos en *Moringa oleifera* Lam. En función de su edad y altura. *Bioagro*, 29(1), 53-60. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1316-33612017000100006&lng=es&nrm=iso&tlng=es

Carvalho, A. S., Silva, J., Ho, P., Teixeira, P., Malcata, F. X., & Gibbs, P. (2004). Relevant factors for the preparation of freeze-dried lactic acid bacteria.

International Dairy Journal, 14(10), 835-847.
<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.02.001>

Castañeda, R., & Cáceres, A. (2014). Compuestos bioactivos y propiedades terapéuticas de los cálices de rosa de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* Linn.). *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia*, 24(1), 7-24.
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5069949>

Chakravorty, S., Bhattacharya, S., Chatzinotas, A., Chakraborty, W., Bhattacharya, D., & Gachhui, R. (2016). Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. *International Journal of Food Microbiology*, 220, 63-72.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.12.015>

Chicaiza G., V. G., & Flores G., E. A. (2016). *Evaluación de extracción, encapsulación y capacidad antioxidante de las antocianinas de la flor de Jamaica (Hibiscus sabdariffa L.)* [Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana, 2016.].
<https://bdigital.zamorano.edu/handle/11036/5760>

Coelho, R. M. D., Almeida, A. L. de, Amaral, R. Q. G. do, Mota, R. N. da, & Sousa, P. H. M. de. (2020). Kombucha: Review. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 22, 100272. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2020.100272>

Cujilema Tene, G. A. (2021). *Bebidas funcionales desarrolladas a partir de una comunidad simbiótica de levaduras y bacterias (Scoby)*. [Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/15538>

David Barroeta Bonilla, Bárbara Arteaga Ballesteros, Kevin Luis Vinalay Romero, & Rocío Ramírez Rodríguez. (2019). **OBTENCIÓN DE CELULOSA BACTERIANA EN CO-CULTIVO DE MICROALGAS INMOVILIZADAS EN ALGINATO** [Revista]. ACONTACS. https://www-optica.inaoep.mx/~tecnologia_salud/acontacs/articulos/2019/MyT2019-170-obtencion_de_celulosa_bacteriana_mediante_el_co-cultivo_simbiotico_de_algas_inmovilizadas.php

de Carvalho Augusto, R. (2020). *LA PRIMERA SONDA DE ELECTRONES DE MICROANÁLISIS DE RAYOS X DE LA COMPOSICIÓN ELEMENTAL DEL PRODUCTO LIOFILIZADO DE LATEX DE EUPHORBIA MILII VAR. HISLOPII Y SU IMPACTO EN EL MACHO DE SCHISTOSOMA MANSONI*.

Donaires Quispe, L. (2018). Fermentación del mosto de caña de azúcar (*saccharum officinarum*) con uso de catalizadores naturales y comerciales para obtener aguardiente—Pachachaca – Abancay- 2018. *Universidad Tecnológica de los Andes*. <https://repositorio.utea.edu.pe/handle/utea/205>

Duarte, Valenzuela, Z. N., Zamora, Gasga, V. M., Montalvo, González, E., & Sáyago, Ayerdi, S. G. (2016). CARACTERIZACIÓN NUTRICIONAL DE 20 VARIETADES MEJORADAS DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.) CULTIVADAS EN MÉXICO. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 39(3), 199-206.
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61046936003>

- Duran, D. O., Trujillo, Y. N., & Mejía, K. G. (2014). Capacidad de producción de alcohol de levaduras vinícolas sobre un sustrato a base de panela. *@limentech, Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 12(1), Article 1. <https://doi.org/10.24054/16927125.v1.n1.2014.499>
- Dutta, H., & Paul, S. K. (2019). 8 - Kombucha Drink: Production, Quality, and Safety Aspects. En *Production and Management of Beverages* (Vol. 1, pp. 259-288). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815260-7.00008-0>
- Esparza-Aguilar, M. E. (2020). Cosecha y poscosecha de flor de jamaica y hierba luisa orgánica en el sector “la era” del canton Catamayo, provincia de Loja. *Revista Investigación Agraria*, 2(3), Article 3. <https://doi.org/10.47840/ReInA.2.3.899>
- Ezzat, S. M., Salama, M. M., Seif el-Din, S. H., Saleh, S., El-Lakkany, N. M., Hammam, O. A., Salem, M. B., & Botros, S. S. (2016). Metabolic profile and hepatoprotective activity of the anthocyanin-rich extract of *Hibiscus sabdariffa* calyces. *Pharmaceutical Biology*, 54(12), 3172-3181. <https://doi.org/10.1080/13880209.2016.1214739>
- Fan, K., Zhang, M., & Mujumdar, A. S. (2019). Recent developments in high efficient freeze-drying of fruits and vegetables assisted by microwave: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(8), 1357-1366. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1420624>
- Freitas, A., Sousa, P., & Wurlitzer, N. (2022). Alternative raw materials in kombucha production. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 30, 100594. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2022.100594>
- Gómez Rodríguez, S. L. (2022). *Evaluación in vitro de las propiedades probióticas de bacterias ácido-lácticas aisladas del Queso Doble Crema* [Trabajo de grado - Maestría, Universidad Nacional de Colombia]. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/83317>
- Gómez-Gallego, C., Gueimonde Fernández, M., Karlund, A., & Salminen, S. (2020). *El papel de los alimentos fermentados en la alimentación*. <https://digital.csic.es/handle/10261/238276>
- Grijalva-Vallejos, N., Aranda, A., & Matallana, E. (2020). Evaluation of yeasts from Ecuadorian chicha by their performance as starters for alcoholic fermentations in the food industry. *International Journal of Food Microbiology*, 317, 108462. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108462>
- Guzman Ortiz, M. (2021). *Resistencia de microorganismos aislados de kombucha a condiciones del tracto gastrointestinal in vitro* [Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco.]. <http://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1023/766>
- Hernández Sosa, I. U. (2019). *Integración de una red socio-productiva para el aprovechamiento de jamaica (Hibiscus sabdariffa) bajo principios de economía*

solidaria en la Costa de Oaxaca.
http://literatura.ciidiroaxaca.ipn.mx:8080/xmlui/handle/LITER_CIIDIROAX/611

Hidalgo, Villatoro, S. G., Cifuentes-Reyes, W. A. de L., Ruano-Solís, H. H., & Cano-Castillo, L. E. (2009). CARACTERIZACIÓN DE TRECE GENOTIPOS DE ROSA DE JAMAICA *Hibiscus sabdariffa* EN GUATEMALA. *Agronomía Mesoamericana*, 20(1), 101-109.
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43711514011>

Islam, Md. Z., Uddin, Md. E., Rahman, Md. T., Islam, M. A., & Harun-ur-Rashid, Md. (2021). Isolation and characterization of dominant lactic acid bacteria from raw goat milk: Assessment of probiotic potential and technological properties. *Small Ruminant Research*, 205, 106532.
<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2021.106532>

Izquierdo, Vega, J. A., Arteaga, Badillo, D. A., Sánchez, Gutiérrez, M., Morales, González, J. A., Vargas-Mendoza, N., Gómez, Aldapa, C. A., Castro, Rosas, J., Delgado, Olivares, L., Madrigal, Bujaidar, E., & Madrigal, Santillán, E. (2020). Organic Acids from Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.)-A Brief Review of Its Pharmacological Effects. *Biomedicines*, 8(5), 100.
<https://doi.org/10.3390/biomedicines8050100>

Jahidul, I., & Kabir, Y. (2019). *Effects and mechanisms of antioxidant-rich functional beverages on disease prevention* (pp. 157-198).

Julia Espinosa-Manfugás ; (s. f.). *Evaluación Sensorial de los alimentos* (1.^a ed.). Editorial Universitaria. Recuperado 6 de diciembre de 2023, de <https://isbn.cloud/9789591605399/evaluacion-sensorial-de-los-alimentos/>

Lobo, R., Dias, F. O., & Shenoy, C. K. (2017). Kombucha for healthy living: Evaluation of antioxidant potential and bioactive compounds. *International Food Research Journal*, 24, 541-546.

Martínez, J. M., Enriques, H. A., Sánchez, D. E., & Mora, O. O. (2016). EVALUACIÓN DE ALGUNAS CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO SOBRE LA COLORIMETRÍA DE UN PRODUCTO CONFITADO A BASE DE PANELA (MELCOCHA)/EVALUATION OF SOME STORAGE CONDITIONS ON THE COLORIMETRY OF A CONFIT PRODUCT MADE FROM PANELA (MELCOCHA). 2016, S460-S463.
<https://www.proquest.com/docview/1783661246?pq-origsite=gscholar&fromopenview=true&sourcetype=Scholarly%20Journals>

Martínez Leal, J., Valenzuela Suárez, L., Jayabalan, R., Huerta Oros, J., & Escalante-Aburto, A. (2018). A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. *CyTA - Journal of Food*, 16(1), 390-399.
<https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1410499>

Menéndez Cevallos, L. T., & Burgos Briones, G. A. (2021). Efectos de la fermentación y secado en el contenido de polifenoles y alcaloides del cacao.

Dominio de las Ciencias, 7(Extra 5), 1280-1304.
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8383827>

Mera, J. A. B., Verduga, G. C. V., Andrade, V. V. A., Muñoz, W. A. G., & Mendoza, J. J. G. (2019). Evaluación de parámetros físico-químicos y organolépticos de una leche fermentada enriquecida con quinua (*Chenopodium quinoa*). *La Técnica. Revista de las Agrociencias*. ISSN 2477-8982, 22, Article 22. https://doi.org/10.33936/la_tecnica.v0i22.1716

Montaño Arango, Oscar., Corona Armenta, Jose., Rivera Gómez, Hector., Martínez Muñoz, Enriquez., & Anaya Fuentes, Gustavo Erick. (2023). Evaluación del nivel competitivo de un desinfectante de alimentos desarrollado a partir de cálices de flor de Jamaica. *Revista CEA*, 9(19), 2315. <https://doi.org/10.22430/24223182.2315>

Morales, Miguel. (2016). *Análisis bromatológico y determinación de factores tóxicos naturales de los hongos silvestres morochike (amanita caesarea) y sojachi (amanita rubescens) en forma natural y cocidos, consumidos en la Sierra Tarahumara de Chihuahua*. Repositorio de Tesis DGBSDI. <https://ru.dgb.unam.mx/handle/20.500.14330/TES01000740775>

Murcia, K. S., & Castañeda, M. del R. (2022). EVALUACIÓN DEL CONTENIDO DE FENOLES TOTALES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS ETANÓLICOS DE LA CÁSCARA DE CACAO (*Theobroma cacao* L.). *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 13(2), 53-66. <http://portal.amelica.org/ameli/journal/130/1303297002/>

Navidad, Murrieta, M. S., Pérez, Larios, A., Sánchez, Burgos, J. A., Ragazzo, Sánchez, J. A., Luna, Bárcenas, G., & Sáyago, Ayerdi, S. G. (2020). Use of a Taguchi Design in Hibiscus sabdariffa Extracts Encapsulated by Spray-Drying. *Foods*, 9(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/foods9020128>

Nicholls Posada, J. E., & Ramírez García, J. A. (2014). Usos y aplicaciones medicinales e industriales de la flor de Jamaica. *instname:Universidad Nacional Abierta y a Distancia*. <http://repository.unad.edu.co/handle/10596/2727>

Nyhan, L., Lynch, K., Sahin, A., & Arendt, E. (2022). Advances in Kombucha Tea Fermentation: A Review. 2022-01-15. <https://doi.org/10.3390/applmicrobiol2010005>

Obando, P. (2010). *La Panela, Valor Nutricional Y Su Importancia En La Gastronomía* [bachelorThesis]. <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/2247>

Obregón La Rosa, A. J., Lozano Zanelly, G. A., Obregón La Rosa, A. J., & Lozano Zanelly, G. A. (2021). Compuestos nutricionales y bioactivos de tres frutas provenientes de la sierra y la selva de Perú como fuente potencial de nutrientes para la alimentación humana. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 22(2). https://doi.org/10.21930/rcta.vol22_num2_art:1835

Pallares, A. P., Estupiñán, M., Villamil, J. A. P., & Giraldo, L. J. L. (2016). Impacto de la fermentación y secado sobre el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante del clon de cacao CCN-51. *Revista ION*, 29(2), Article 2. <https://doi.org/10.18273/revion.v29n2-2016001>

Quettier-Deleu, C., Gressier, B., Vasseur, J., Dine, T., Brunet, C., Luyckx, M., Cazin, M., Cazin, J.-C., Bailleul, F., & Trotin, F. (2000). Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *Journal of Ethnopharmacology*, 72(1), 35-42. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(00\)00196-3](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00196-3)

Riaz, G., & Chopra, R. (2018). A review on phytochemistry and therapeutic uses of *Hibiscus sabdariffa* L. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 102, 575-586. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.03.023>

Ricaurte, Heredia, A. S. (2020). *Determinación de la viabilidad del Acetobacter acetii y saccharomyces cerevisiae presentes en el Medusomyces gisevi (hongo kombucha) para una posible aplicación en la agroindustria, mediante la utilización de tres sustratos* [Escuela Superior Politecnica de Chimborazo]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/15506>

Roa Condori, B. P., & Bolívar Viza, M. S. (2020). *Evaluación de la variabilidad de la capacidad antioxidante y contenido fenólico de fruto maduro de Prunus serotina (cerezo), fruto liofilizado y mermelada*. <http://hdl.handle.net/20.500.12773/11554>

Rodríguez, M. P. Q., Arango, D. M., Posada, D. C. R., & Gil, D. M. G. (2023). Conservación de bacterias por liofilización en la Colección de Microorganismos CM-EM-UDEA, Medellín, Colombia. *Biota Colombiana*, 24(2), Article 2. <https://doi.org/10.21068/2539200X.1127>

Rosado Coraizaca, K. (2020). *APLICACIÓN DE ABONOS ORGÁNICOS EN LA PRODUCCIÓN DEL CULTIVO FLOR DE JAMAICA (Hibiscus sabdariffa L.), RECINTO HIGUERÓN SANTA LUCIA* [Tesis, Universidad Agraria del Ecuador]. <https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/ROSADO%20CORAIZACA%20KERLY%20JANNETH.pdf>

Salamanca G, G., Osorio T, M. P., & Montoya, L. M. (2010). ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA FUNCIONAL DE ALTO VALOR BIOLÓGICO A BASE DE BOROJO (*Borojoa patinoi* Cuatrec). *Revista chilena de nutrición*, 37(1), 87-96. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182010000100009>

Sarkar, S. (2018). Whether viable and dead probiotic are equally efficacious? *Nutrition & Food Science*, 48(2), 285-300. <https://doi.org/10.1108/NFS-07-2017-0151>

Silva, J. I., Cerda, R. B., & Hernández, M. C. (2013). Uso de Tecnologías Emergentes para la Elaboración de Bebidas Funcionales (Aloe Vera) | Acta

Química Mexicana. 2013-06-29, 5(9), 4.
<http://www.actaquimicamexicana.uadec.mx/?p=566>

Solari-Godiño, A., Córdova-Ramos, J. S., Pilco-Quesada, S., Cerrón-Mallqui, L. M., Albrecht-Ruiz, M., & Sánchez Hernández, J. (2017). Composición proximal y propiedades funcionales del surimi liofilizado de *Dosidicus gigas* «calamar gigante». *Scientia Agropecuaria*, 8(1), 57-62.
<https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2017.01.05>

Suárez-Rebaza, L. A., de Albuquerque, R. D. D. G., Zavala, E., Alva-Plasencia, P. M., Ganoza-Suárez, M. M., Ganoza-Yupanqui, M. L., & Bussmann, R. W. (2023). Chemical composition and antioxidant capacity of purified extracts of *Prosopis pallida* (Humb. & Bonpl. Ex Willd.) Kunth (Fabaceae) fruits from Northern Peru. *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas*, 22(5), 594-606. Scopus. <https://doi.org/10.37360/blacpma.23.22.5.43>

Valencia, Avilés, E., Ignacio, Figueroa, I., Sosa, Martínez, E., Bartolomé, Camacho, M. C., Martínez, Flores, H. E., & García, Pérez, M.-E. (2017). Polifenoles: Propiedades antioxidantes y toxicológicas. *Revista de la Facultad de Ciencias Químicas*, 16, Article 16.
<https://publicaciones.ucuenca.edu.ec/ojs/index.php/quimica/article/view/1583>

Vargas, B. K., Fabricio, M. F., & Záchia Ayub, M. A. (2021). Health effects and probiotic and prebiotic potential of Kombucha: A bibliometric and systematic review. *Food Bioscience*, 44, 101332. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101332>

Vargas, Lopez, J., & Vargas, Mora, F. (2011). *Elaboración de una bebida refrescante fermentando la simbiosis kombucha con el objeto de mejorar la calidad de vida de los consumidores de bebidas no alcohólicas* [Universidad Tecnica de Ambato]. <https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/1759>

Velicanski, A., Cvetkovic, D., Markov, S., Saponjac, V., & Vulic, J. (2015). *Antioxidant and Antibacterial Activity of the Beverage Obtained by Fermentation of Sweetened Lemon Balm (Melissa officinalis L.) Tea with Symbiotic Consortium of Bacteria and Yeasts*. 52(4), 420-429. <https://doi.org/10.17113/ftb.52.04.14.3611>

Veloz Pinto, K. L. (2022). Determinacion de las Potencialidades del Cáliz de *Hibiscus sabdariffa* (Flor de Jamaica) para la elaboración de Cosmeceuticos en el cantón Guayaquil de Octubre a Diciembre del 2021 [masterThesis]. En *Repositorio de la Universidad Estatal de Milagro*. <http://repositorio.unemi.edu.ec/xmlui/handle/123456789/6001>

Villaroel, Soto, S., Beaufort, S., Bouajila, J., Souchard, J. P., & Taillandier, P. (2018). *Understanding Kombucha Tea Fermentation: A Review*. 83(3), 580-588. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14068>

Viteri Borja, J.G., Parraga Alava, R.C., García Mendoza, J. J., Barre Zambrano, R. L., & Romero Bravo, J. P. (2022). Calidad fisicoquímica y sensorial de cerveza artesanal estilo blonde ale con infusión de flor deshidratada de jamaica (*Hibiscus*

sabdariffa). 2022-12-17, 19(4), 331-339.
<http://dx.doi.org/10.57188/manglar.2022.042>

Vivek, K., Mishra, S., Pradhan, R. C., Nagarajan, M., Kumar, P. K., Singh, S. S., Manvi, D., & Gowda, N. N. (2023). A comprehensive review on microencapsulation of probiotics: Technology, carriers and current trends. *Applied Food Research*, 3(1), 100248. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100248>

Waterhouse, A. L. (2002). Determination of Total Phenolics. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 6(1), I1.1.1-I1.1.8.
<https://doi.org/10.1002/0471142913.fai0101s06>